

**Die Ausscheidung von Oestradiol,
Oestron und Oestriol im Harn
nach Verabreichung von
synthetischen Gestagenen**

Herbert Stecher

AUS DER I. FRAUENKLINIK UND HEBAMMENSCHULE
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Bickenbach

**Die Ausscheidung von Oestradiol, Oestron
und Oestriol im Harn nach Verabreichung
von synthetischen Gestagenen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Herbert Stecher
aus Ulm/Donau

München
1959



5349/60

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Privat-Dozent Dr. R. KAISER

Dekan: Professor Dr. H. SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung: 15. 12. 1959

MEINEN LIEBEN ELTERN

IN DANKBARKEIT GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSANGABE

	Seite
EINLEITUNG	7
A. Allgemeiner Teil	
a. Die Oestrogene (Entdeckung, Chemie, Vorkommen, Stoffwechsel und Wirkung)	8
b. Die Gestagene	
α . Natürliche Gestagene	14
β . Synthetische Gestagene	18
B. Methodischer Teil	
a. Biologische Bestimmungsverfahren für Oestrogene	21
b. Chemische Bestimmungsverfahren für Oestrogene	21
c. Angewandtes Verfahren nach J.B. BROWN zur Trennung von Oestradiol, Oestron und Oestriol	23
C. Spezieller Teil	
Die Oestrogenausscheidung nach Verabreichung von Nortestosteronverbindungen	
a. Literaturangaben	32
b. Eigene Untersuchungen	34
D. Diskussion der Ergebnisse	55
E. Zusammenfassung	60
LITERATURVERZEICHNIS	62
LEBENS LAUF	69

EINLEITUNG

Oestrogene und Gestagene spielen in der gynäkologischen Hormontherapie eine bedeutende Rolle. Die Forschung ist deshalb bemüht, über Herkunft, Menge und Schicksal dieser Stoffe im Organismus möglichst genau Bescheid zu wissen.

Die Entwicklung neuer chemischer Extraktionsmethoden gibt die Möglichkeit, oestrogene Hormone im Harn sehr genau zu bestimmen. Gegenüber früher können heute statt der Gesamtoestrogene oder dem zusammengefassten Oestradiol - Oestron alle drei Oestrogene, Oestradiol, Oestron und Oestriol, getrennt extrahiert werden. Mit dem Verfahren von J. B. BROWN gelingt es zum Beispiel, quantitative Vergleiche über ihre Ausscheidung bei ein und derselben Versuchsperson anzustellen.

Aufgabe dieser Arbeit war es, das Verhalten der Ausscheidungen an Oestradiol, Oestron und Oestriol nach Gaben von synthetischen Gestagenen zu prüfen. Herangezogen wurden Frauen, bei denen die Ovarialfunktion nicht mehr vorhanden oder zumindest weitgehend erloschen war. Die Untersuchungen hatten insofern eine aktuelle Bedeutung, als klinische Erfahrungen neben der gestagenen auch auf eine zusätzliche oestrogene Wirkung der Nortestosteronverbindungen schliessen lassen.

Verabreicht wurden diese Substanzen oral und parenteral, zum Teil in veresterter Form.

A. ALLGEMEINER TEIL

a. Die Oestrogene

(Entdeckung, Chemie, Vorkommen, Stoffwechsel und Wirkung)

Eine kursorische Betrachtung über die geschichtliche Entwicklung der Erforschung von oestrogenen Hormonen zeigt, dass diese im Jahr 1923 begann, als ALLEN und DOISY (2) im Saft des reifen Follikels einen brunstauslösenden Stoff entdeckten und auch biologisch nachwiesen.

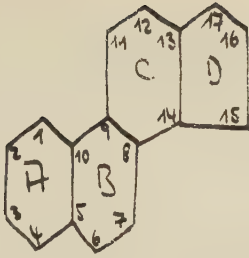
1929 gelang es BUTENANDT (11) und gleichzeitig und unabhängig von ihm DOISY (25), ferner LAQUEUR (50), aus Schwangerenharn kristallines Follikelhormon, das man später dann Oestron nannte, in reiner Form zu isolieren. BUTENANDT (13, 14) klärte die Konstitution. Das Cylopentanoperhydrophenanthren mit der Summenformel $C_{17}H_{28}$ bildet das Gerüst. Ein aromatischer Ring A, eine OH-Gruppe an C_3 , eine Methylgruppe bei C_{13} und eine Keto-Gruppe an C_{17} sind für das Oestron kennzeichnend.

Kurz darauf stellte MARRIAN (54) in derselben Weise aus Schwangerenharn Oestriol dar. Dieses ist weniger wirksam als das Oestron. Sein Gerüst ist dasselbe wie das des Oestrone, es besitzt gleichfalls den aromatischen A-Ring, die OH-Gruppe an C_3 und die Methylgruppe bei C_{13} , zum Unterschied jedoch an C_{16} und C_{17} je eine OH-Gruppe.

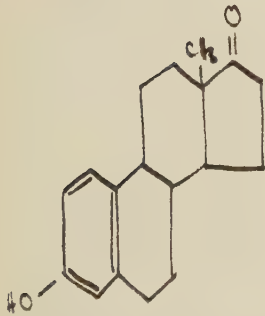
DOISY (21, 24, 23) fand das α -Oestradiol, WINTERSTEINER (82, 81, 80) die α - und β -Form desselben. Diese beiden Isomere unterscheiden sich durch die Stellung der OH-Gruppe an C_{17} . Das biologisch wirksamere β -Oestradiol hat die β -Konfiguration an C_{17} (in Bezug auf die Methylgruppe an C_{13}).

Man nennt die Oestrogene wegen des aromatischen A-Ringes, den sie alle drei besitzen, auch Phenolsteroid. Dieser aromatische Ring ist von grösster Bedeutung, weil die Oestrogene durch ihn bei Steroidbestimmungen von anderen Steroiden getrennt werden können.

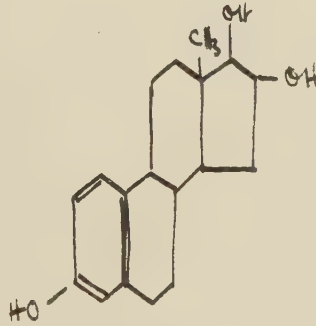
Was den Stoffwechsel der Oestrogene angeht, so weiss man heute, dass Oestradiol vor allem das Ausgangsprodukt darstellt und Oestriol ein definitives Abbauprodukt ist. Oestron kann mit Hilfe des Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Systems wieder zu Oestradiol reduziert werden (61, 75). Dieses dient als H_2 -Donator bei der Reduktion, wozu allerdings noch ein nicht näher bezeichnetes "gelbes Ferment" zur H_2 -Übertragung notwendig ist (53).



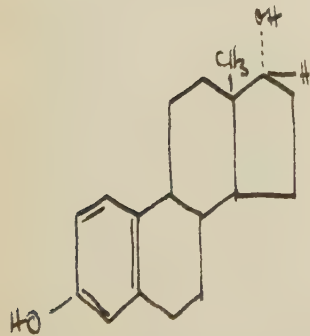
CYCLO-PENTANO-PERHYDRO-PHENANTHREN



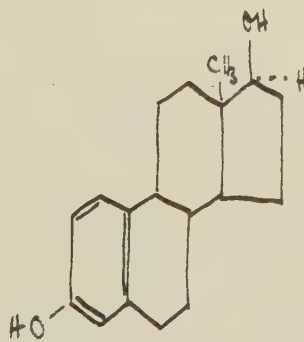
OESTRON



OESTRIOL



α-OESTRADIOL



β-OESTRADIOL

RYAN und ENGEL (65) stellten fest, dass Gewebe wie Plazenta, Leber, Nebenniere, Mamma, Endometrium, Myometrium, Hoden, Ileum und Niere imstande sind, eine Fraktion in die andere umzuwandeln. Grösste Aktivität bei der Überführung von Oestradiol in Oestron hat das Gewebe der Plazenta. Hodengewebe soll dagegen besonders befähigt sein, Oestron in Oestradiol umzubauen.

H. BREUER, L. NOCKE und R. KNUPPEN (9) berichteten vor kurzem, dass nach Inkubation von Oestradiol-(17β) oder Oestron mit Leberschnitten männlicher Ratten als Metaboliten 6ϵ -Hydroxy-Oestradiol-(17β), 6ϵ -Hydroxy-Oestron sowie Oestriol isoliert wurden.

Nur ein kleiner Prozentsatz von injizierten Steroidhormonen wird im Harn wiedergefunden, die Hauptmenge also auf andere Weise abgebaut. Dies geschieht vor allem in der Leber.

TAYLOR (79) berichtet dazu, dass in der Leber die chemische Umwandlung der wirksamen Hormone in inaktive Substanzen erfolgt und die physiologische Ausscheidung der Oestrogene durch die Galle stattfindet.

Es ist seit Jahren bekannt, dass beträchtliche Mengen von oestrogenen Hormonen in den Faezes gefunden werden. Diese Tatsache wurde in Deutschland zuerst von SIEBKE festgestellt. Eine Gruppe von Physiologen in Philadelphia (79) erkannte daraufhin einen sogenannten enterohepatischen Kreislauf der Oestrogene. Nach ihren Angaben werden diese in grossen Mengen mit der Galle ausgeschieden, dann durch den Darm wieder resorbiert, um erneut von der Leber sezerniert zu werden. Dieser Vorgang bringt wahrscheinlich mit jeder neuen Passage der Leber Veränderungen im Oestrogenstoffwechsel mit sich (79).

TWOMBLEY (24) konnte nach eingehenden Untersuchungen mit einer radioaktiven, oestrogen-wirksamen Substanz, dem sog. Dibromoestron, einen solchen enterohepatischen Kreislauf bestätigen. Mit dem Geigerzählrohr gelang es in den verschiedenen Partien der Exkretionsorgane das Oestrogen nachzuweisen. Er kommt dabei zu dem Ergebnis, dass ca 70 % des injizierten Stoffes durch die Galle und ca 3,8 % im Urin ausgeschieden werden. Somit ist die Leber nicht nur das Organ, in dem die Steroide von Verbindungen höherer zu solchen niedrigerer biologischer Aktivität umgewandelt werden, sondern auch das hauptsächliche Ausscheidungsorgan. Berücksichtigt man allerdings die Rückresorption im Darm, so ist die Gesamtausscheidung durch die Galle auf dem Weg über die Faezes vielleicht nicht viel grösser als die durch die Nieren.

Die Bildung inaktiver Verbindungen der Oestrogene wird in der Leber durch mindestens drei chemische Prozesse ausgeführt, nämlich durch Veresterung oder Bindung, durch Umwandlung in weniger wirksame Substanzen und wahrscheinlich durch tiefergehende chemische Zerstörung. Diese Fähigkeit der Leber, oestrogene Hormone zu inaktivieren, wurde durch Tierversuche von TAYLOR und Mitarbeiter (79) bewiesen. Die Inaktivierung von Oestradiol durch das Lebergewebe scheint von einer ausreichenden Zufuhr von Thiamin und Riboflavin und von Eiweiss abhängig zu sein. Die schwefelhaltigen Aminosäuren sind dabei von wesentlicher Bedeutung (BISKIND).

Durch die Untersuchungen von DOISY und Mitarbeitern in St. Louis wurde mit grosser Sicherheit festgestellt, dass Oestradiol eine primär im Ovarium gebildete Substanz ist (79).

Genauere Aufschlüsse über den Stoffwechsel der Oestrogene ergaben in letzter Zeit weitere Versuche mit radioaktiven Isotopen. HEUSGHEM (40) und VERLY berichteten von einem raschen Abbau des Oestrone unter Aufspaltung des Fünfer-Rings, wenn man Lebergewebe der Ratte und des Kaninchens darauf einwirken lässt. Es konnte dabei erstmals eine Umsetzung von phenolischen in neutrale Steroide nachgewiesen werden. Ausserdem liessen sich phenolische Steroide nachweisen, unter denen Oestradiol und Oestriol erkannt wurden. Die Umwandlung von Oestron in Oestradiol in der Leber war damit bewiesen.

Dieselben Forscher injizierten männlichen Kaninchen C^{14} -markiertes Oestron in kleinen Mengen intravenös. Es verschwand in kurzer Zeit fast vollkommen aus dem Blut; dafür liessen sich mehrere radioaktive Substanzen, zum Teil wasserlöslicher Natur, zum Teil in Form von Steroiden, nachweisen. In der Ätherfraktion kamen neutrale und saure, ketonische und nichtketonische Verbindungen vor. Da die Hydrolyse der Blutproteine aber nur eine sehr schwache ätherlösliche und radioaktive Fraktion ergab, scheint eine Bindung an Eiweiss in grossem Umfang zweifelhaft. Später erfolgte dann ein tiefgreifender Umbau des Oestronmoleküls (40).

In der durchströmten menschlichen Plazenta wurde der gegenseitige Umbau von Oestron und Oestradiol beobachtet. Man fand, dass 58 % des radioaktiven Oestradiols in Oestron umgewandelt wurden; 45 % liessen sich in der Durchströmungsflüssigkeit und 13 % in der Plazenta selbst nachweisen. Eine Umwandlung in Oestradiol von radioaktivem Oestron konnte auf diese Weise ebenfalls beobachtet werden. In keinem Fall fand man eine Umwandlung in Oestriol (52).

G. MUELLER und G. RUMNEY (56) beschrieben Versuche, die zeigten, dass Mäuseleber-Mikrosomen in Anwesenheit von TPN-H^+ Oestradiol primär zu 6 β -Hydroxy-Oestradiol hydroxylieren, welches zu 6 β -Keto-Oestradiol und 6 β -Hydroxy-Oestron umgewandelt wird.

Die Hydrolyse mit Enzymen ergab, dass Oestron hauptsächlich an Schwefelsäure gebunden wird, Oestriol dagegen vorwiegend an Glukuronsäure; Oestradiol kann sowohl als Sulfat als auch in Form von Glukuronid vorkommen. Im allgemeinen wurden injizierte Hormone rasch den Geweben zugeführt. Dort erfolgte ein Um- und Abbau; die Produkte daraus erschienen bald wieder im Blut und wurden entweder durch die Nieren oder durch die Galle ausgeschieden. Unter den mit der Galle ausgeschiedenen Steroiden konnten die Glukuronsäure- und Schwefelsäureester von Oestriol und Oestradiol nachgewiesen werden, dagegen kaum Oestron (40).

Die Hauptausscheidungsform im Harn ist die wasserlöslicher Ester, nämlich Oestriolglukuronid, Oestrionsulfat und Oestriolsulfat, letzteres allerdings nur im Schwangerenarn.

Diese gebundenen Substanzen sind biologisch inaktiv, so dass bei biologischer Bestimmung der im Urin enthaltenen Hormone eine Hydrolyse zur Freisetzung der aktiven Substanz notwendig ist.

Mengenmässig ist die Ausscheidung des Oestriols meistens die höchste, die des Oestradiols die niedrigste, während sie beim Oestron ungefähr zwischen diesen beiden liegt (43).

Neben der Ausscheidung in den Faezes und im Harn ist noch diejenige im Colostrum und im Speichel schwangerer Frauen zu erwähnen.

Oestrogene sind beispielsweise vermehrt nachweisbar bei Granulosa- oder Thekazelltumoren, bei persistierenden Follikeln, follikulären Hyperplasien und feminisierenden Nebennierentumoren, ausserdem bei Leberschäden, hier dann vorwiegend in freier Form. Verminderte oder ganz negative Werte treten auf bei Kastration, Rückbildung der Ovarien in der Menopause und bei Hypofunktionen. Während des Menstruationszyklus finden wir Schwankungen der Hormonwerte. Ein Gipfel in der Ausscheidung der Gesamtoestrogene ist zur Zeit der Ovulation zu verzeichnen mit ca 100 μ pro 24-Stundenurinmenge. Eine kontinuierliche Zunahme der Follikelhormonausscheidung erfolgt in der Schwangerschaft. Oestriol bildet den höchsten Prozentsatz, dann kommt Oestron und zuletzt wieder Oestradiol (4).

Der Name Oestrogene = Brunsterreger sagt schon, welche Funktion diese Hormone im Organismus haben. Ihre Wirkung wurde zuerst im Tierexperiment erprobt; sie zeigte sich, ob es sich nun um geschlechtsreife Tiere handelte oder infantile, senile oder kastrierte.

Oestrogene fördern vor allem die Entwicklung der primären und sekundären Geschlechtsmerkmale. Zur Zeit der Reife sind sie massgeblich für den ganzen Ablauf des sexuellen Geschehens mitverantwortlich. Bezüglich der weiblichen Psyche haben sie einen stimulierenden Effekt. Die Oestrogene lösen die Proliferationsphase aus. In Kombination mit Progesteron sind sie notwendig zur Ausbildung der Sekretionsphase, wobei das Verhältnis Oestrogene / Progesteron, ebenso wie die absoluten Hormonmengen entscheidend sind (59, 7, 45). An den Vaginalepithelien verursachen Oestrogene eine typische Veränderung, so dass man von einem Oestrogenbild des Vaginalsmears spricht (45). Das Luteinphasenbild stellt an der Vagina einen Kombinationseffekt von Oestrogenen und Progesteron dar (45).

Verschiedene Autoren beschreiben einen Einfluss der Oestrogene auf die Basaltemperatur, und zwar dadurch, dass sie die Temperatur etwas senken und den hyperthermischen Effekt des Progesterons aber steigern (45, 68, 26).

In der Schwangerschaft haben die oestrogenen Hormone zusammen mit Progesteron eine Lockerung des Beckengürtels, ein Wachstum der Uterusmuskulatur und der Uterusschleimhaut, sowie die Entwicklung des Milchdrüsengewebes zur Folge.

Die kochsalz- und wasserretinierende Wirkung der Steroide, besonders der oestrogenen Hormone spielt beim sogenannten "praemenstruellen Syndrom" und in der Schwangerschaft eine Rolle (79).

Oestriol bewirkt nach PUCK und HÜBNER (63) selektiv eine starke Auflockerung und Proliferation an Portio und Scheide. Schon geringe Mengen können die Cervixdrüsen zur vermehrten Sekretion bringen, während die Endometriumdrüsen nicht proliferieren.

Das Erscheinen hoher Oestriolwerte im Harn vor dem Partus soll nach PUCK (63) zur Auflockerung der ganzen von der Geburt betroffenen Organgewebe dienen. Ferner hat das Oestriol eine wasseranreichernde Wirkung im Interstitium des Endometrium (45).

Der Unterschied zwischen den drei Oestrogenen zeigt sich, abgesehen von der

bereits besprochenen chemischen Struktur, vor allem in ihrer Wirkungsintensität. Am aktivsten ist das Oestradiol, es ist 8 - 10 mal wirksamer als das Oestron. Von den beiden Formen des Oestradiols ist β -Oestradiol das aktivere. Oestriol hat unter den Oestrogenen eine sehr geringe Wirksamkeit (53).

Die Messung der Oestrogenaktivität erfolgt in Internationalen Einheiten (IE).

Bei Oestron:

$$1 \text{ IE} = 0,0001 \text{ mg} = 0,1 \mu\text{ des Standardpräparates}$$

Ausserdem gibt es die Internationale Oestradiolbenzoateinheit (IBE) (ausschliesslich für pharmazeutische Präparate):

$$1 \text{ IBE} = 0,0001 \text{ mg} = 0,1 \mu\text{ des Oestradiolbenzoatpräparates}$$

Die biologische Masseinheit lautet:

1 Mäuseeinheit (ME) und 1 Ratteneinheit (RE) = Minimalmenge an Oestrogenen, die bei kastrierten, weiblichen Tieren zum reinen Schollenstadium der Vagina führen.

Die Wirksamkeit der einzelnen Oestrogene in Mäuseeinheiten ausgedrückt:

1000 μ Oestriol entsprechen 75 ME

1000 μ Oestron entsprechen 8000 ME

1000 μ Oestradiol entsprechen 75 000 ME (37).

b. Die Gestagene

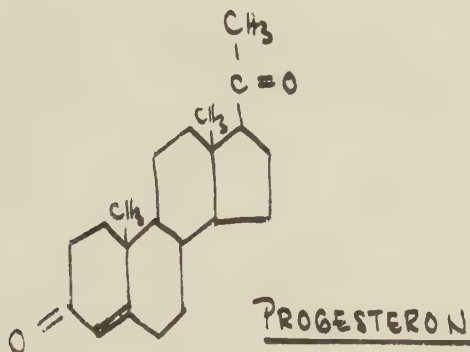
a. Natürliche Gestagene

Das hauptsächlichste, gestagen-wirksame Hormon im Organismus ist das Progesteron. Die ersten Untersuchungen, die auf das Vorhandensein eines Hormons im Gelbkörper hinwiesen, wurden von FRAENKEL kurz nach der Jahrhundertwende vorgenommen (4, 35, 34).

In den Jahren 1931 - 32 gelang ALLEN und CORNER (4, 1), FEVOLD und HISAW (4, 32), ferner FELS und SLOTTA (4, 30) aus Schweinegelbkörpern die Darstellung von Progesteron. Fast gleichzeitig und unabhängig voneinander konnten 1934 BUTENANDT und U. WESTPHAL (4, 15, 17) in Danzig, SLOTTA, RUSCHIG und FELS (4, 70) in Breslau, ALLEN und WINTERSTEINER (4, 3) in New-York und HARTMANN und WETTSTEIN (4, 38) in Basel, das Hormon in kristallinischer Form rein darstellen.

Das Progesteron erwies sich als ein ungesättigtes Diketon mit der Summenformel $C_{21}H_{30}O_2$ (4).

Seine Konstitution wurde 1933 - 34 von BUTENANDT (4, 16) und von FERNHOLZ (4, 31) aufgeklärt:



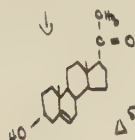
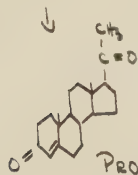
Über die Bildungszentren wissen wir, dass schon der sprungreife Graafsche Follikel etwa zwei Tage vor der Ovulation grössere Mengen an Progesteron produziert (85). Im Corpus luteum findet man die grösste Progesteronbildung zwischen dem 7. und 8. Tag nach der Ovulation (85). Die Plazenta enthält bereits im zweiten Schwangerschaftsmonat verhältnismässig grosse Mengen an Progesteron, die aber im weiteren Verlauf der Schwangerschaft noch mehr ansteigen (85).

Lange Zeit wurde Progesteron als das einzige, natürlich vorkommende Gestagen angesehen. 1954 wurde aber im Laboratorium der Kaufmannschen Klinik aus Plazenten, Corpora lutea und sprungreifen Follikeln neben Progesteron eine weitere Substanz isoliert (85, 87). Diese hatte sehr ähnliche chemische Eigenschaften wie Progesteron. Weitere Versuche ergaben, dass es sich bei dieser Substanz um einen Metaboliten des Progesterons im menschlichen Organismus handelt (85, 84). Es ist dies ein Gemisch der 20α - und 20β -Isomeren des Δ^4 -3-Ketopregnen-20-ol (85, 86). Das biologisch wirksamere dieser beiden Hormone ist das Δ^4 -3-Ketopregnen-20 β -ol, das sich als nicht ganz so wirksam wie Progesteron erwies (85).

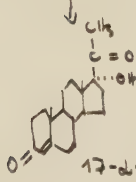
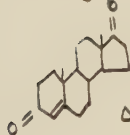
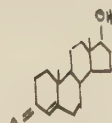
Das Progesteron wird hauptsächlich in der Leber und wahrscheinlich auch in

den Nieren inaktiviert. Die inaktivierten Stoffe werden durch den Harn, zum grossen Teil aber auch durch die Galle ausgeschieden. Es handelt sich dabei vorwiegend um Pregnandiol, das mit Glukuronsäure verestert ist. Auf Grund von Tierversuchen ist ein enterohepatischer Kreislauf des Progesterons wahrscheinlich (85).

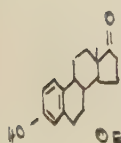
Eine dominierende Stellung räumt man dem Progesteron in der Biosynthese der Sexuelhormone ein. Nach neueren in-vitro und in-vivo Untersuchungen nimmt man für die Biosynthese bei Tier und Mensch folgende Reaktionskette, die auf enzymatischem Weg zustandekommt, an:

ÄTATCHOLESTERIN Δ^5 -PREGNEN-3 β -ol-20 on

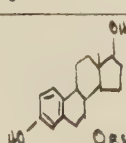
PROGESTERON

17- α -OxyPROGESTERON Δ^4 -ANDROSTEN-3,17-DION

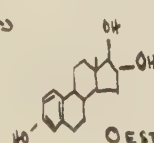
TESTOSTERON



OESTRON



OESTRADIOL



OESTRIOL

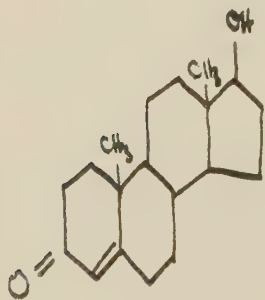
OESTROGENEGESTAGENEANDROGENE

Progesteron entsteht demnach in den steroidbildenden Drüsen aus Acetat und Cholesterin. Ob die Biosynthese aber grundsätzlich über Cholesterin als Zwischenprodukt verläuft, ist noch nicht ganz klar. Progesteron kann durch Enzymsysteme der Nebennierenrinde, Hoden- und Ovarialgewebe über mehrere Stufen in Androgene und diese ihrerseits auf ähnliche Weise in Oestrogene verwandelt werden (85). Es wurde im Verlaufe solcher Untersuchungen ein androgen-wirksames Steroid, Δ^4 -Androsten-3, 17-dion aus dem menschlichen Corpus luteum isoliert (85).

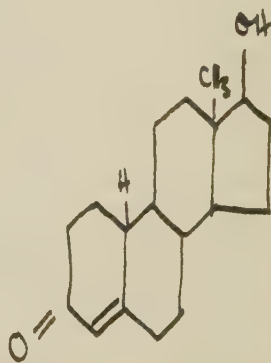
β. Synthetische Gestagene

In letzter Zeit wurden zahlreiche künstliche Stoffe mit gestagener Wirkung bekannt. Eine hohe gestagene Aktivität fand man erstmals beim Nor-Progesteron (77). Später zeigte sich, dass 19-Nor-Testosteron-Derivate auffallend hohe gestagene Effekte entfalten können (77). Bald sah man aber auch, dass diesen, dem Testosteron und dem Progesteron nahestehenden Steroiden, ausser der gestagene Wirkung noch andere Wirkungsqualitäten zukommen, z.B. androgene und anabole Effekte (77). Diese Tatsache muss bei der klinischen Anwendung dieser Gestagene beachtet werden.

Von den zahlreichen künstlichen Gestagenen interessieren hier nur die im Rahmen dieser Arbeit verabreichten Stoffe. Diese gehören ohne Ausnahme der Nortestosteronreihe an. Sie lassen sich von dem Androgen Testosteron ableiten. Nortestosteron unterscheidet sich chemisch von Testosteron lediglich durch Fehlen der angulären Methylgruppe an C₁₀:

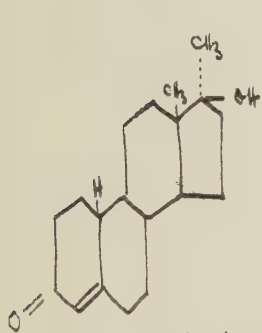


TESTOSTERON

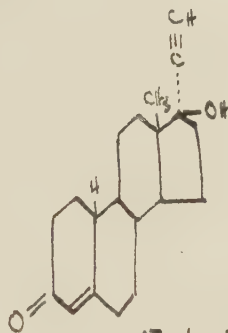


19-NORTESTOSTERON

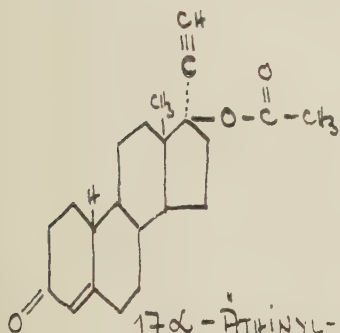
Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden vier verschiedene Präparate verabreicht, über deren Stoffwechsel bis jetzt noch wenig bekannt ist. Es handelt sich im einzelnen um folgende Stoffe:



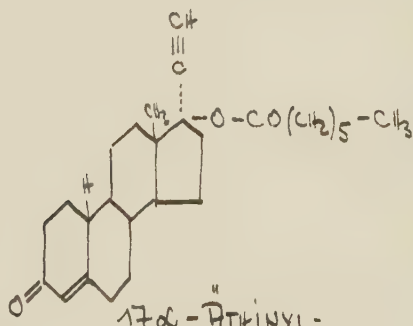
17 α -METHYL-
19-NORTESTOSTERON



17 α -ÄTHINYL-
19-NORTESTOSTERON



17 α -ÄTHINYL-
19-NORTESTOSTERON-
AZETAT



17 α -ÄTHINYL-
19-NORTESTOSTERON-
ÖNANTHAT

Für die Wirkung der künstlichen Gestagene gilt im allgemeinen dasselbe wie für die natürlichen, nur bestehen Unterschiede in der Intensität, Dauer und oralen Applikationsmöglichkeit (77, 6, 44). Die orale Wirksamkeit der künstlichen Gestagene, speziell der Derivate des Nortestosterons, hat die grösste praktische Bedeutung. Zeigt sich doch Progesteron zum Beispiel bis in extrem hohe Dosen oral als völlig unwirksam. Ähnlich wie mit Progesteron verhält es sich mit den andern natürlichen Gestagenen und mit den Progesteronderivaten (77).

Was den Wirkungsgrad der Nortestosteronverbindungen angeht, so erwiesen sich Äthyl-, Methyl- und Äthinyl-Nortestosteron wirksamer als Progesteron i. m. (77). Dies gilt z. B. für das Endometrium und die Basaltemperatur als Testobjekte.

Einige veresterte Substanzen dieser Gruppe haben eine besonders lange Wirkungsdauer, so zum Beispiel das 17 α -Äthinyl-Nortestosteron-Önanthat in einer Dosis von 100 - 200 mg von etwa 3 - 5 Wochen (77, 6).

In der Therapie werden deshalb die künstlichen Gestagene der Nortestosteronreihe heute vielfach dem Progesteron vorgezogen. Im allgemeinen dienen die Gestagene zur Behandlung von Zyklusstörungen.

B. METHODISCHER TEIL

a. Biologische Bestimmungsverfahren für Oestrogene

Die ersten Untersuchungen über das Verhalten der Oestrogene wurden durch Bestimmung der biologischen Aktivität am Versuchstier durchgeführt. Erst später kamen dann chemische Bestimmungsmethoden zur Anwendung, mit deren Hilfe genauere Angaben möglich waren.

Unter den biologischen Methoden ist der ALLEN - DOISY- Test der bedeutendste. Dieser stützt sich auf Arbeiten von PAPANICOLAOU (60), STOKKARD (76) und EVANS (27), die Versuche mit Meerschweinchen bzw. Ratten angestellt hatten. Bei diesem Test wird am kastrierten, weiblichen Nagetier ein Brunstzyklus angeregt, wobei sich die Vollbrunst in einer charakteristischen Verhornung des Scheidenepithels zeigt. Weiblichen kastrierten Mäusen appliziert man subcutan die zu prüfende Substanzmenge in 0,1 ccm Sesamöl-Lösung. Nach 40 - 80 Stunden tritt die Vollbrunst ein, die sich im histologischen Bild des Vaginalsemears durch das Verschwinden von Leukozyten und Epithelzellen und durch das Auftreten von kernlosen Schollen zeigt.

Der vorzeitige Eintritt der Vaginalöffnung bei infantilen Ratten durch Applikation von oestrogenen Hormonen bildet die Grundlage für eine andere Untersuchungsmethode. Während drei Tagen wird dabei das zu prüfende Hormon 18 - 20 Tage alten Ratten unter die Haut injiziert. Als Einheit gilt hier die Menge, die innerhalb von 6 - 8 Tagen eine Öffnung der Vagina mit anschliessender Vollbrunst hervorruft (22).

Daneben kann man Oestrogene noch durch die Zunahme des Uterusgewichtes bei infantilen Mäusen testen (28, 29). Es bestehen dabei grosse Unterschiede je nach Art der Verabreichung.

b. Chemische Bestimmungsverfahren für Oestrogene

Nach langer Entwicklungsarbeit besitzen wir heute chemische Bestimmungsverfahren, mit denen es möglich ist, schon kleine Mengen an oestrogenen Hormonen nachzuweisen. Dadurch spielen biologische Verfahren heute praktisch keine grosse Rolle mehr.

Fast alle chemischen Methoden setzen sich aus Hydrolyse, Extraktion der Hormonfraktion, Reinigung des Extraktes, sowie Fraktionierung und Messung der gewonnenen Substanz zusammen.

Verschiedene Verfahren, wie diejenigen von COHEN und MARRIAN (20), SMITH, SMITH und SCHILLER (71), TALBOT, WOLFE, Mc LACHLAN und BUTLER (78), LAWRENCE und WERTHESEN (51), STEVENSON und MARRIAN (74a) u. a., konnten letzten Endes in ihren Ergebnissen nicht ganz überzeugen. Erst mit neuen, verbesserten Fraktionierungsmethoden, die BACHMANN und PETTIT (5) angaben, wurde eine Trennung in Oestriol und in ein Gemisch aus Oestradiol und Oestron erreicht. Oestradiol und Oestron liessen sich sehr rasch mit Benzol oder Äther aus dem Harn extrahieren, während Oestriol in wässrigem Milieu besser löslich war. Von JAILER (41) wurde dieses Verfahren für den klinischen Gebrauch modifiziert. KELLER (46) beschrieb 1953 eine verfeinerte Extraktionsmethode, in der er nach vorausgegangener Säurehydrolyse, die Ätherextraktion, dann die Reinigung durch Verteilung in verschiedenen Lösungsmitteln und die Trennung des rohen Phenolsteroidextraktes mit Hilfe einer Chromatographieröhre mit Aluminiumoxyd in das Oestradiol-/Oestron-Gemisch und Oestriol vornahm. BROWN (10) schliesslich gelang es, alle drei Oestrogene exakt getrennt zu extrahieren.

Da sich bisher nicht alle Verunreinigungen ganz beseitigen lassen, die sich störend auf die Colorimetrie auswirken, stellt die Messung der gewonnenen Hormone ein schwieriges Problem dar.

KOBER (48) arbeitete 1931 erstmals ein Verfahren aus, mit dessen Hilfe die Oestrogene eine Farbreaktion ergaben. Dabei wurde ein Gemisch von Extrakt und Schwefelsäure erwärmt und mit Wasser verdünnt. Es entstand dadurch eine rotgefärbte Lösung mit grüner Fluoreszenz. 1938 veröffentlichte KOBER (48) eine Verbesserung seiner Methode mittels Naphtolschwefelsäure, die ebenfalls eine rote Farbreaktion mit allen oestrogenen Stoffen ergab. Eine Farbreaktion mit Phtalsäureanhydrid beschrieb KLEINER (47).

Auf der Grundlage des Kober-Testes stellte PSCHYREMBEL (62) ein Verfahren zur getrennten Bestimmung der oestrogenen Hormone aus verschiedenen Methoden zusammen, das aber keine wesentlichen Vorteile bringt.

JAILER (42), COHEN und BATES (19) und FINKELSTEIN (33) haben nicht die Farbintensität, sondern die Fluoreszenz gemessen. Die Methode erwies sich auch nicht als exakt.

Fortschritte brachte dagegen die Ultraviolett-Spektrophotometrie, die 1948 zum ersten Mal zur Anwendung kam. Ihre Entwicklung verdanken wir FRIEDGOOD - GARST und HAAGEN - SMITH (36). Diese Methode beruht auf der Messung der optischen Dichte der zu untersuchenden Lösungen im Beck-

mann-Quarzspektrophotometer. Für die Farbreaktion wurde eine konstante 70 %ige Schwefelsäure angewandt. BREITNER und EICHSTÄDTER (8) modifizierten dieses Verfahren, indem sie die durch spektrophotometrische Messung gewonnenen Extinktionskurven nach der ALLEN'schen Formel

$$\text{Faktor } F = E_x - \frac{E_a + E_b}{2}$$

rechnerisch auswerteten.

Dabei bedeutet Faktor F den gesuchten Extinktionswert der zu messenden Substanz. E_x ist die Extinktion bei der Wellenlänge x. E_a und E_b stellen die Extinktionen bei den Wellenlängen a und b dar (wobei der Abstand zwischen ax und bx gleich sein muss, die Wellenlänge a und b im übrigen aber beliebig gewählt werden kann).

c. Angewandtes Verfahren nach J. B. BROWN zur Trennung von Oestradiol, Oestron und Oestriol

Die eigenen Versuche wurden nach der von J. B. BROWN angegebenen Methode durchgeführt. Sie entstand in Anlehnung an die von CLAYTON (18) beschriebene und hat ihren Vorteil in der getrennten Bestimmung von Oestradiol, Oestron und Oestriol, auch bei kleinen Mengen.

BROWN schaltet einen zusätzlichen Arbeitsgang ein, indem er durch Methylierung der Phenolfraktion den Reinigungsvorgang verbessert. Die Trennung der methylierten Oestrogene erfolgt mittels Chromatographie auf Säulen, die aus Aluminiumoxyd hergestellt sind. Sie werden dann auf dem Wege der Colorimetrie mit einer verbesserten Kober-Farb-Reaktion bestimmt, wobei störender Untergrund durch die spektrophotometrische Methode nach ALLEN beseitigt wird.

Bei den Versuchen wurden grundsätzlich die in der Originalarbeitsvorschrift angegebenen Bedingungen eingehalten.

Arbeitsvorschrift und Erklärung der verschiedenen Arbeitsgänge:

1. Hydrolyse und Extraktion

- a) 200 ml einer 24-Stunden-Urinmenge werden unter dem Rückflusskühler zum Kochen gebracht, dann mit 30 ml konzentrierter Salzsäure (11-n) versetzt und 60 Minuten lang weitergekocht. Anschliessend kühlt man rasch ab.

Die in konjugierter Form ausgeschiedenen Steroide werden durch die Säurehydrolyse aus ihren Verbindungen in Freiheit gesetzt.

- b) Der abgekühlte, hydrolysierte Urin wird zuerst mit 1 x 200 ml und dann anschliessend mit 2 x 100 ml Äther nach dem 3 - Scheidetrichtersystem extrahiert. Die saure Fraktion wird durch Waschen des Äthers mit einer gesättigten Na_2CO_3 -Lösung (80 ml) von pH 10,5 entfernt. Den Ätherextrakt schüttelt man mit 20 ml NaOH (8 %ig) kräftig durch. Die NaOH - Phase, die auch einige Oestrogene enthält, wird mit 80 ml 8 %iger, gesättigter NaHCO_3 - Lösung teilweise neutralisiert, so dass die Karbonationenkonzentration zunimmt, und dann noch einmal mit dem Ätherextrakt ausgeschüttelt. Auf diese Weise gelangen die Oestrogene in den Äther zurück, die störenden Substanzen bleiben in der wässrigen Schicht, die verworfen wird. Nun wäscht man den Äther mit 20 ml 8 %iger gesättigter NaHCO_3 - Lösung, um ein etwa noch alkalisches Milieu zu neutralisieren. Damit soll ein allzu grosser Oestriolverlust bei der anschliessenden Reinigung des Ätherextraktes mit aqua dest., das die Bikarbonatrete entfernt, verhindert werden.

2. Extraktion der Phenolfraktion und Methylation

- a) Der Ätherextrakt wird in einem 500-ml-Kolben bis zur Trockne verdampft. Den Rückstand löst man sofort in 1 ml Äthanol, um Oestriol, das in Benzol nicht leicht löslich ist, aufzulösen und kühlt den Kolben ab. Sein Inhalt wird mit 25 ml Benzol in einen Scheidetrichter gebracht, der bereits 25 ml Leichtpetroleum enthält. Man extrahiert die Oestrogene aus diesem Benzol-Leichtpetroleumgemisch mit:

a. 2 x 25 ml aqua dest.

b. 2 x 25 ml 1,6 %iger NaOH

Der Wasserextrakt enthält das gesamte Oestriol und kommt in einen verschlossenen

100-ml-Kolben mit 0,9 g H_3BO_3 + 4 ml 20 %iger NaOH

Der NaOH-Extrakt, der das Oestron und Oestradiol enthält, kommt ebenfalls in einen

100-ml-Kolben mit nur 0,9 g H_3BO_3

- b) Beide Behälter werden in einem Wasserbad auf 37°C erwärmt. Danach fügt man den Gemischen je 1 ml Dimethylsulfat bei, schüttelt kräftig durch und stellt sie erneut für 10 bis 30 Minuten ins Wasserbad. Der Vorgang wird nach Zugabe von nochmals 1 ml Dimethylsulfat wieder-

holt. Dieses ersetzt das erste bereits neutralisierte Dimethylsulfat. Nach weiteren 10 - 30 Minuten ist die Methylierung beendet.

In der Methylierung der Phenolgruppen haben wir eine Methode, um eine spezifische Trennung der wahren Phenole von nichtphenolischem Material zu erreichen. Es ändert sich dadurch ihre Löslichkeit und die Oestrogenmethyläther können dann leicht von den nichtphenolischen Beimengungen getrennt werden. Diese Trennung erfolgt wirksam in alkalischem Milieu in Anwesenheit von Dimethylsulfat und H_3BO_3 -Pufferlösung (pH zwischen 10 und 11,5). Die Reaktion soll langsam bei 37°C ablaufen.

3. Entfernung der störenden Substanzen durch Oxydation und Extraktion der methylierten Oestrogene

a) Jedem Kolben wird zugegeben:

10 ml 20 %iger NaOH

2,5 ml 30 %iges H_2O_2

Das konzentrierte Peroxyd in alkalischer Lösung bei Raumtemperatur stellt das beste Oxydationsreagens dar, um die auf dieser Stufe vorhandenen Verunreinigungen der methylierten Phenolfractionen zu alkalilöslichen Produkten zu oxydieren und zu entfernen.

b) die methylierte Oestriolfraction wird mit

25 ml Benzol

die methylierte Oestron-/Oestradiolfraction mit

25 ml Leichtpetroleum

in Scheidetrichtern extrahiert, nachdem die Lösungsmittel zuerst dazu benutzt wurden, die entsprechenden Methylierungskolben zu spülen.

Die Benzol-Leichtpetroleumextrakte werden mit

2 x 5 ml aqua dest.

gewaschen und das Wasser möglichst vollständig abgelassen. Eine beträchtliche Reinigung der Oestrogenextrakte, die man durch den Methylierungsvorgang erreicht, erkennt man daran, dass die Benzol- und Leichtpetroleumphase fast farblos ist, und sich alle sichtbaren Pigmente in der wässrigen Schicht befinden.

4. Chromatographie

Sie führt zu einer Aufteilung in die drei Oestrogene:

1. in Oestriol
2. in Oestron und
3. in Oestradiol.

Neben dieser Trennung führt die Chromatographie zu einer Beseitigung weiterer Urochrome, die im Rohextrakt noch vorhanden waren. Bei der chromatographischen Trennung werden standardisierte Glasröhren verwendet, die mit Aluminiumoxyd gefüllt werden. Eine Säule wird folgendermassen aufgebaut:

Man legt zunächst eine kleine Watteschicht unten in die Chromatographieröhre, darauf kommen 2 g Aluminiumoxyd, die mit 3 Tropfen aqua dest. entaktiviert wurden. Das Aluminiumoxyd wird mit einer 1 cm hohen Schicht von in Eisessig und Äthanol gewaschenem Sand bedeckt, die zum Schutze der Säule bei der Zugabe von Lösungsmitteln dient.

Das methylierte, in Benzol gelöste Oestriol lässt man nun die mit Benzol präparierte Aluminiumoxydsäule durchlaufen. Danach wird die Säule gewaschen mit:

- a) 12 ml eines Gemisches von 1,4 % Äthanol in Benzol. Die durchgelaufene Flüssigkeit entfernt Urinfarbstoffe und wird verworfen.
- b) 15 ml eines Gemisches von 2,5 % Äthanol in Benzol. Die passierte Lösung enthält den gesamten Oestriolmethyläther, der gesammelt wird.

Die methylierte Oestron/Oestradiolfraction im Leichtpetroleum giesst man durch eine zweite Alaunersäule, die in Leichtpetroleum präpariert wird. Diese Säule reinigt man mit:

- a) 12 ml eines Gemisches von 12 % Benzol in Leichtpetroleum, das anschliessend verworfen wird.
- b) 15 ml eines Gemisches von 40 % Benzol in Leichtpetroleum.
- c) Weiteren 12 ml desselben Gemisches.

Diese Lösung mit dem gesamten Oestronmethyläther wird sorgfältig aufgefangen.

- d) 12 ml Benzol.

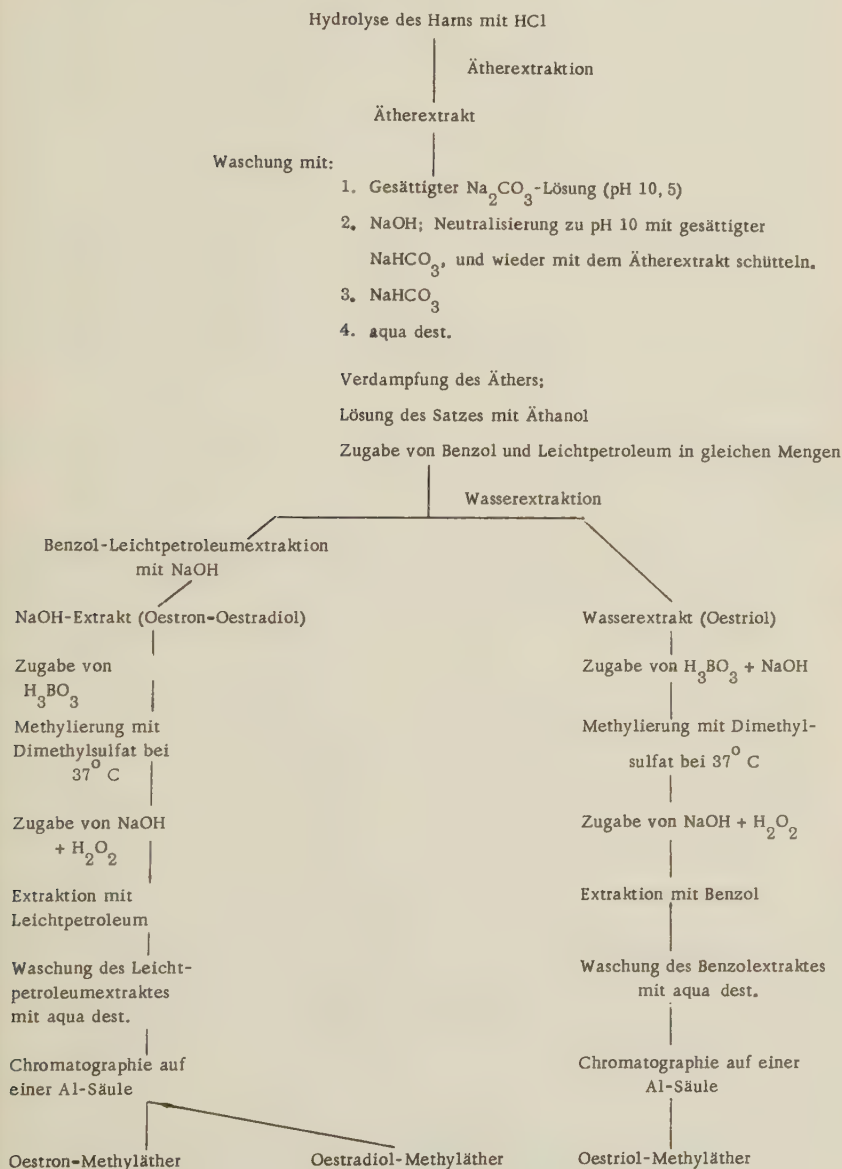
Damit löst man den gesamten Oestradiolmethyläther heraus.

5. Verdampfung des Lösungsmittels

Den drei Oestrogenlösungen werden Hydrochinon (4 mg) in Äthanollösung (0,2 ml von 2 % w/v) und ein kleines Stück porösen Tons zugefügt. Die Lösungsmittel destilliert man ab und trocknet den Rückstand am Vakuum.

Drei Stehkolben, die nur Hydrochinon enthalten, werden in gleicher Weise präpariert und dienen bei der Messung als Vergleichsreagenzien.

Schematische Darstellung des BROWN' schen Verfahrens zur Bestimmung der Oestrogene



Es kam bei der Durchführung des Verfahrens sehr auf eine exakte Arbeitsweise an. Sie erfordert einen erheblichen Zeitaufwand und ist deshalb für den klinischen Gebrauch zu kompliziert. Wir rechneten für eine Einzelbestimmung ohne Messung einen Arbeitsaufwand von ca 12 - 13 Stunden, wobei aber durch rationelle Einteilung bei mehreren nebeneinanderlaufenden Analysen Zeit eingespart werden konnte.

Die Urine wurden möglichst rasch zur Hydrolyse gebracht und die Analysengänge nie lange unterbrochen.

Die Chemikalien müssen pro analysi sein. Zu sämtlichen Lösungen, die im Labor zubereitet wurden, wurde aqua dest. verwendet. Es konnte nur mit einwandfreiem Gerät gearbeitet werden, weshalb man ausschliesslich Ganzglasapparaturen benutzte, die sorgfältig gereinigt und absolut trocken waren. Auf der Innenfläche durften sie nicht betastet werden. Die Glashähne mussten gut eingeschliffen sein, da Hahnfett nicht verwendet werden konnte.

6. Die Messung der gewonnenen oestrogenen Hormone mit Hilfe der Spektrophotometrie

a) Färbung:

Man gibt zunächst in die Stehkolben, in denen sich als Trockenrückstand die einzelnen Oestrogene befinden, ein Hydrochinon - H_2SO_4 - Reagenz, und zwar für jedes der drei Oestrogene ein bestimmtes:

Zum Oestriol gibt man 3 ml einer 76 %igen Quinol- H_2SO_4 -Lösung, zum Oestron 3 ml einer 66 %igen Quinol- H_2SO_4 -Lösung und dem Oestradiol fügt man 3 ml einer 60 %igen Quinol- H_2SO_4 -Lösung bei. Auf dieselbe Weise verfährt man mit den Vergleichsreagenzien. Die so entstandenen Lösungen erhitzt man 20 Minuten lang in kochendem Wasserbad. Nach der raschen Abkühlung wird:

dem Oestriolgefäß 1 ml, dem Oestrongefäß 0,5 ml und dem Oestradiolgefäß 0,2 ml aqua dest. zugefügt. Dasselbe gilt auch hier wieder für die Vergleichsreagenzien.

Die Gefässe kommen für weitere 10 Minuten ins kochende Wasserbad. Damit der Färbevorgang sogleich unterbrochen wird, muss danach rasch abgekühlt werden.

b) Messung:

Diese erfolgt mit dem Beckmann-Quarz-Spektralphotometer, Modell DU. Es liegt diesem folgendes Prinzip zugrunde:

Ein Hohlspiegelsystem ist so angeordnet, dass ein von einer Licht-

quelle kommendes Strahlenbündel auf das sog. Littrow'sche Prisma trifft. Dieses wird in seine einzelnen Spektralbereiche zerlegt und wieder reflektiert. Bei einer besonderen Einstellung des Prismas kann man den Lichtanteil einer gewissen Wellenlänge ausblenden, ihn durch die zu messende Lösung schicken und auf eine Photozelle treffen lassen. Die Belichtungsintensität der Photozelle ist von der Absorption bzw. der optischen Dichte der zu untersuchenden Substanz abhängig. Die in der Photozelle entstehenden Potentialdifferenzen, die durch die wechselnde Belichtung bei verschiedenen Wellenlängen verursacht werden, sind an einem Widerstand auszugleichen. Die Werte kann man an einer Skala ablesen.

Die Hormon- und Vergleichslösungen werden in Cuvetten von 1 x 1 x 4 cm Inhalt gefüllt und in die Messkassette des Beckman-Apparates eingeschoben. Zunächst wird der Strahlengang durch die Vergleichslösung gelenkt und die Extinktion zum Nullwert justiert. Daraufhin wird die dunklere Hormonlösung dem Strahlengang mit der Wellenlänge 480 m μ ausgesetzt. Der jetzt auftretende Wert wird notiert, da er die Differenz der Extinktion zum Testreagenz darstellt. Die anschließenden Messungen werden in der gleichen Weise gehandhabt.

Die Oestriol- und Oestronfraktion werden bei folgenden Wellenlängen gemessen:

480 m μ 516 m μ 552 m μ

die Oestradiolfraction bei:

480 m μ 518 m μ 556 m μ

c) Auswertung der Extinktionswerte:

Durch störende im Harn enthaltene Substanzen, die während des Verfahrens nicht zu beseitigen sind, wird die Färbung beeinflusst und damit unter Umständen auch die optische Dichte verändert. Um das auszuschliessen, wird eine Korrektur vorgenommen, die man mit Hilfe der Allen'schen Formel erreicht.

Diese korrigierte Lesart heisst bei Oestriol und Oestron:

$$2 \left[D_{516} - (D_{480} + D_{552}) \right]$$

für Oestradiol heisst sie:

$$2 \cdot \left[D_{518} - (D_{480} + D_{556}) \right] \quad D = \text{optische Dichte}$$

Die Extinktion wird also errechnet, indem man die Werte, die bei den verschiedenen Wellenlängen abgelesen wurden, in die entsprechende Formel einsetzt.

Die Menge an Oestrogenmethyläthern in γ bekommt man, wenn man die errechneten Extinktionswerte in eine Standardkurve einträgt. Diese wurde mit reinem Oestrogenmethyläther hergestellt. Zum Schluss werden die abgelesenen Werte auf die 24-Stunden-Urinausscheidung umgerechnet.

Fehlerquellen

Voraussetzung für solche Untersuchungen ist zunächst die exakte Sammlung des 24-Stunden-Urins. Ferner muss dafür gesorgt werden, dass die Frauen in der Untersuchungszeit keinerlei Medikamente erhalten. Es können dadurch Farbreaktionen, Schleimstoffe und ähnliches bei den Analysen auftreten, die die Ergebnisse unter Umständen erheblich verändern.

Die verschiedenen Destillationen sollen langsam erfolgen (zwei Tropfen pro Sekunde), damit keine Hormone abdestilliert werden. Nach dem Färben ist eine sofortige Messung notwendig, da die gefärbten Lösungen die Tendenz haben nachzudunkeln, was die Ergebnisse beeinträchtigen kann.

Ausserdem ist darauf zu achten, dass die einzelnen Untersuchungen möglichst wenig und nicht für längere Zeit unterbrochen werden, da sich durch das Stehen mit den verschiedenen Chemikalienzusätzen evtl. unerwünschte Nebenreaktionen ergeben können.

Wiedergewinnungsversuche

Wiedergewinnungsversuche zeigten die Arbeitsverluste, die durch den Analysengang entstanden waren. Zunächst wurde die Oestrogenmenge eines hormonarmen Urins nach dem Brown'schen Verfahren bestimmt. In einer zweiten Probe gab man demselben Urin nach der Hydrolyse eine bekannte Menge Rein hormonlösung zu. Danach wurden im Parallelversuch wieder die Oestrogene bestimmt.

Aus der Differenz beider Ergebnisse ergaben sich für die einzelnen Fraktionen folgende Arbeitsverluste:

Oestriol	17.69 ‰
Oestron	9.46 ‰
Oestradiol	24.66 ‰

Diese Zahlen sind Durchschnittswerte, die aus zwei getrennten Wiedergewinnungsversuchen ermittelt wurden.

C. SPEZIELLER TEIL

Die Oestrogenausscheidung nach Verabreichung von
Nortestosteron-Verbindungen

a. Literaturangaben

Schon frühere Arbeiten zeigen, dass eine Beeinflussung der Oestrogenausscheidung nach Zufuhr von anderen Steroiden möglich ist. In der Literatur findet man jedoch nur wenige Angaben speziell über den Einfluss, den Nortestosteronverbindungen auf die Oestrogenausscheidung im Organismus ausüben.

STAEMMLER und LAURITZEN (73) beobachteten, dass nach Äthinyl-Nortestosteron-Gaben im Harn gelegentlich eine Zunahme der Oestriolfraction nachzuweisen war, während die Ausscheidung der anderen Steroide im Harn unbeeinflusst blieb.

Auch KAISER (44) berichtete, dass nach Applikation der Nortestosteronverbindungen Äthinyl-, Methyl- und Äthyl-Nortestosteron die Oestriolfraction im Harn vermehrt auftrat. Nach Ausgangswerten zwischen 5 und 25 μ Oestriol / 24-Stundenurin wurden nach Äthinyl-Nortestosteron-Verabreichung durchschnittlich 100 μ /täglich gefunden, nach Methyl-Nortestosteron 130 μ /täglich und nach Äthyl-Nortestosteron 50 μ pro Tag.

Sehr interessant sind neueste Untersuchungen von KUSHINSKY (49), dem es gelang, 19-Nortestosteron-Acetat und 19-Nortestosteron in Oestrogene umzuwandeln. Durch Ozonisation des Nortestosteron-Acetats und anschliessende Inkubation mit *Corynebakterium simplex* bekam er eine Aromatisierung von 79 %. Nach der Inkubation von freiem 19-Nortestosteron mit *Corynebakterium simplex* gewann er ein Gemisch von Oestron, Oestradiol und einer Spur von 19-Nor- Δ^4 -Androsten-3,17-dion. In einem der Inkubationsversuche von 19-Nortestosteron-Acetat-4-C¹⁴ mit *C. simplex* bestanden die isolierten Stoffe aus 17 β -Oestradiol-4-C¹⁴-17-Monoacetat (59 %) und 1- oder 2-Hydroxy-19-Nortestosteron-Acetat-4-C¹⁴ (25 %). Das letztere aromatisierte vollständig bei der Hydrolyse des Acetats an C¹⁷ und ist vielleicht ein Zwischenprodukt der *C. simplex*-Dehydrogenisierung.

Obwohl nun diese wenigen Literaturstellen unser gesteigertes Interesse fanden und sich die Ergebnisse der eigenen Versuche recht gut hineinfügten, so sollen doch auch noch Berichte über das Verhalten des Testosterons, eines chemisch-strukturell nahe Verwandten des Nortestosterons unter ähnlichen Ver-

suchsbedingungen berücksichtigt werden. Testosteron und sein Derivat Nortestosteron unterscheiden sich lediglich durch eine fehlende Methylgruppe an C₁₀ beim letzteren. Obwohl Testosteron androgene, die Nortestosteronverbindungen aber überwiegend gestagene Eigenschaften haben, zeigen sich tatsächlich manche Parallelen.

SIMMER (69) weist in einer zusammenfassenden Veröffentlichung auf eine Reihe von Versuchen in vitro und in vivo hin, die seit fast 25 Jahren von verschiedenen Forschern mit Androgenen durchgeführt wurden und bei denen es immer zu eindeutigen Oestrogenanstiegen im Harn kam. Diese Befunde wurden erhoben, ob es sich nun um Bestimmungsmethoden biologischer oder chemischer Art handelte. Auch die Untersuchungen mit markierten Androgenen ergaben eine Bestätigung dieser Befunde.

Schon 1935 konnten BUTENANDT und KUDZUS (12) in einem biologischen Test an infantilen, weiblichen Ratten beobachten, dass Androgene schwach oestrogen wirkten. BUTENANDT vermutete aus der chemischen Verwandtschaft der verschiedenen Steroide und aus diesen Versuchen, dass sich möglicherweise ein Umbau von Androgenen in Oestrogene vollzieht. BUTENANDT RUZICKA und WETTSTEIN (64) schrieben dabei dem Δ^4 -Androsten-dion eine zentrale Stellung im Stoffwechsel der Steroide zu.

Nachuntersucher konnten eine oestrogene Wirkung des Testosterons im Tierversuch bestätigen.

1936 bekam diese Hypothese von der Umwandlung androgener Hormone in Oestrogene neue Stützen. Mehrere Untersucher konnten erhöhte Oestrogenausscheidungen nach verschiedenen Androgengaben bei Tier und Mensch feststellen (74, 67, 58).

In neuerer Zeit führten genauere Methoden, vor allem chemisch-physikalischer Art weiter (39). Man konnte durch in-vitro-Versuche sogar Fermente in verschiedenen Organen nachweisen, die solche Umwandlungen vornahmen (55). Auch ist es gelungen, Androgene im weiblichen Organismus nachzuweisen. SALHANICK (66) fand Δ^4 -Androsten-dion in der Plazenta, ZANDER (85) im Corpus luteum. Testosteron wurde bisher bei der Frau nicht nachgewiesen. SOLOMON (72) gewann durch Inkubation von Rinderovarien in vitro aus markiertem Progesteron 17- α -Oxyprogesteron und Δ^4 -Androsten-dion.

SIMMER weist noch auf die Phänomene aus der Klinik bei den virilisierenden Ovarialerkrankungen hin, wobei der Übergang von den Androgenen zu den Oestrogenen verringert oder blockiert sein könnte, wie zum Beispiel beim Stein-Leventhal-Syndrom. Umgekehrt könnte in einem feminisierenden Hodentumor der Abbau der Androgene besonders begünstigt sein (85).

Bei Testosteronbehandlungen an mehreren Frauen mit Mammacarcinomen wurde unter dem Einfluss des Hormons eine Exacerbation des Tumors beobachtet. Bei zweien davon wurde während der Behandlung im Urin Oestron und Oestradiol gefunden, nachdem, beide kastriert und adrenaletomiert, vorher diese nicht nachzuweisen waren (57).

Weiter schreibt SIMMER (69) in seiner Publikation "Androgene als Prooestrogene?", dass die Schwierigkeit der künstlichen Umwandlung von Androgenen in Oestrogene vor allem die Aromatisierung des aliphatischen A-Ringes der Androgene war. Diese Umwandlung sei aber schon vor fast 20 Jahren gelungen. Durch Erhitzen kann man $\Delta^{1,4}$ -Androstadienol-(17)-on (3) zu Oestradiol umbauen. Dieses ist ein Steroid mit 19 C-Atomen, das sich vom Testosteron nur durch eine zusätzliche Doppelbindung im A-Ring unterscheidet. Es wurde durch Abspaltung der angulären Methylgruppe an C₁₀ zu einem oestrogen-wirksamen C₁₈-Steroid. Später wurde auch $\Delta^{1,4}$ -Androstadiendion- (3, 17), das entsprechende Derivat des Δ^4 -Androstendions in Oestron umgewandelt. Zwei nahe Verwandte der beiden wichtigsten natürlichen Androgene lassen sich also künstlich zu Oestrogenen umwandeln. Das ist auch der Weg, auf dem heute von der Pharmazeutischen Industrie oestrogene Hormone grostechnisch hergestellt werden. Das $\Delta^{1,4}$ -Androstadiendion- (3, 17) gewinnt man neuerdings mit Hilfe von Bakterienfermenten aus Progesteron. Aus einem Gestagen entsteht somit über ein Androgenderivat ein Oestrogen.

b. Eigene Untersuchungen

Unsere Untersuchungen verteilten sich auf insgesamt 10 Frauen, die sich entweder in der natürlichen Menopause befanden oder deren Ovarialfunktion durch frühere Operationen ausgeschaltet worden war. Es wurden vier verschiedene Gestagenpräparate der Nortestosteronreihe geprüft und zwar Äthinyl-Nortestosteron-Acetat, Äthinyl-Nortestosteron, Methyl-Nortestosteron und Äthinyl-Nortestosteron-Önanthat.

I. Äthiny1-Nortestosteron-Acetat erhielten vier Frauen, davon jeweils zwei in derselben Dosierung.

Frau G. bekam an elf aufeinanderfolgenden Tagen je eine Dosis von 30 mg in oraler Form. Die Oestradiolausscheidung zeigte gegenüber den Ausgangswerten keine Veränderung, die Werte waren wie vor der Hormonzufuhr immer negativ. Das Oestron stieg dagegen nach zwei Tagen von sehr niedrigen Ausgangswerten auf 25 μ und nach zwei weiteren Tagen auf 27 μ an. Es blieb dann 6 weitere Tage erhöht. Das Oestriol blieb bei den ersten drei Untersuchungen ungefähr im Niveau der Ausgangswerte von 10 und 13 μ , sank daraufhin aber langsam bis auf den Nullwert herab (siehe Tabelle I und Abbildung I).

Frau G.

66 Jahre alt, III-para, Menopause mit 50 Jahren

Bestrahlung nach Adeno-ca. des corpus uteri.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	14.5.58	720 ccm	Ø	1 μ	10 μ
2	15.5.	700 ccm	Ø	2 μ	13 μ
ab 16.5. täglich 30 mg Äthiny1-Nortestosteron-Acetat (oral)					
3	18.5.	670 ccm	Ø	25 μ	9 μ
4	20.5.	600 ccm	Ø	27 μ	14 μ
5	22.2.	980 ccm	Ø	9 μ	11 μ
6	24.5.	830 ccm	Ø	14 μ	7 μ
7	26.5.	650 ccm	Ø	21 μ	Ø

Tabelle I

FRAU G. ZUSTAND NACH RADIUM-+RÖNTGENBESTRAHLUNG
66 JAHRE

o = 10 mg ÄTHINYL-NORTESTOSTERON-ACETAT (ORAL)

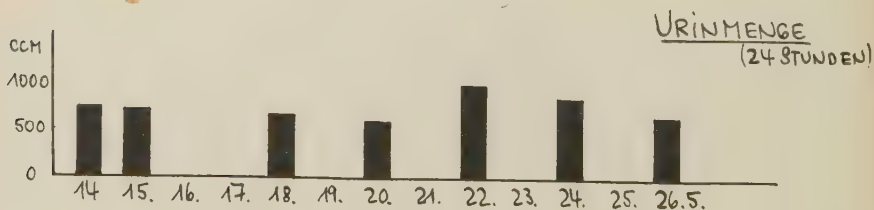
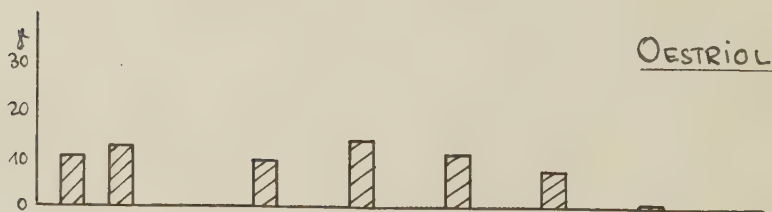
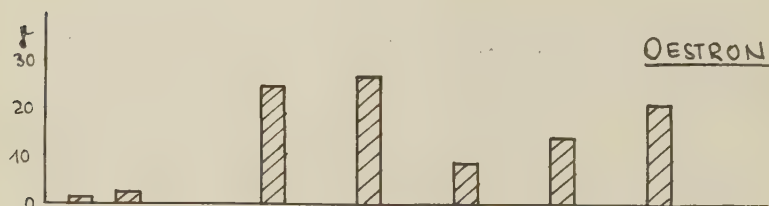
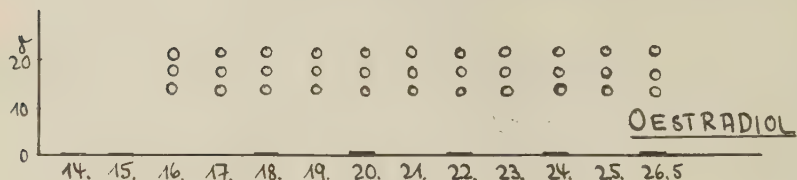


Abb. I

Bei Frau H., die gleichfalls täglich 30 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat erhielt, war vor und während der Verabreichung die Oestradiolausscheidung negativ. Die Oestronfraktion zeigte gleich am Tage nach Beginn der Medikation einen erheblichen Anstieg auf 21 γ gegenüber Ausgangswerten von 2 und 2 γ . Auch an den folgenden Untersuchungstagen war die Ausscheidung noch erhöht.

Beim Oestriol war eine leichtere Depression vom ersten Untersuchungstag an zu erkennen. Die Untersuchungen erstreckten sich über 6 Tage (siehe Tabelle II und Abbildung II).

Frau H.

32 Jahre alt, I-para, Menopause seit 1958

Im Juni 1958 Röntgen- und Radiumbestrahlung wegen Ovarialneoplasma.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	31.5.58	1350 ccm	Ø	2 γ	29 γ
2	1.6.	1480 ccm	Ø	2 γ	35 γ
ab 2.6. täglich 30 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat (oral)					
3	3.6.	1270 ccm	Ø	21 γ	21 γ
4	4.6.	1220 ccm	Ø	15 γ	11 γ
5	5.6.	1100 ccm	Ø	5 γ	Ø
6	6.6.	960 ccm	Ø	4 γ	25 γ
7	7.6.	650 ccm	Ø	9 γ	17 γ

Tabelle II

FRAU H. ZUSTAND NACH RADIUM- + RÖNTGEN-
BESTRAHLUNG
32 JAHRE

o = 10 mg. ÄTHINYL-NORTESTO-
STEROID-ACETAT (ORAL)

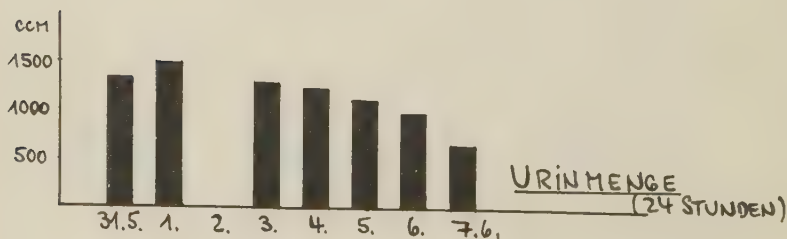
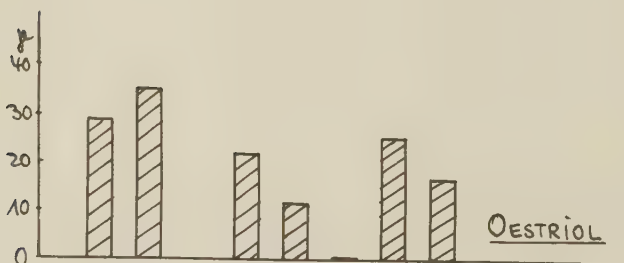
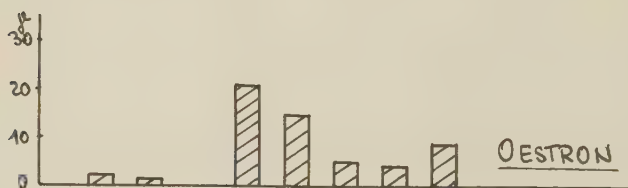
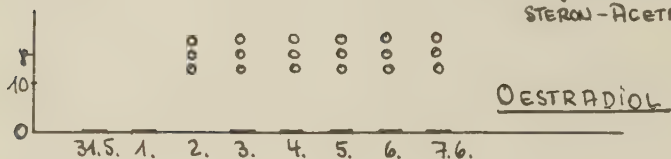


ABB. II

Frau B. wurde eine Dosis von 100 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat verabreicht, verteilt auf zwei aufeinanderfolgende Tage mit je 50 mg oral. Die Oestradiolausscheidung war sowohl bei den beiden Ausgangsbestimmungen als auch nach der Verabreichung des Präparates dauernd negativ. Auch Oestron war zunächst negativ, stieg aber gleich am Tag der ersten Hormondosis mit 31 γ auf einen maximalen Wert an. An den folgenden Tagen sank die Ausscheidung des Oestron aber wieder auf Null ab. Sehr geringen Ausgangswerten an Oestriol folgte zunächst noch keine Veränderung, die zweite Dosis am Tag darauf bewirkte dagegen eine starke Erhöhung, die mit 41 γ ein Maximum darstellte. Danach fielen die Werte ab, blieben aber gegenüber der Ausgangsausscheidung immer noch erhöht (siehe Tabelle III und Abbildung III).

Frau B.

51 Jahre alt, III-para, Menopause seit 1957

Vordere und hintere Scheidenplastik wegen descensus vaginae im April 1958.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	23.4.58	1200 ccm	Ø	Ø	Ø
2	24.4.	1000 ccm	Ø	1 γ	2 γ
	am 25.4. 50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat (oral)				
3	25.4.	800 ccm	Ø	31 γ	Ø
	am 26.4. nochmals 50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat (oral)				
4	26.4.	850 ccm	Ø	2 γ	41 γ
5	27.4.	900 ccm	Ø	Ø	10 γ
6	28.4.	1100 ccm	Ø	Ø	4 γ
7	29.4.	1130 ccm	Ø	Ø	8 γ
8	30.4.	1080 ccm	Ø	Ø	6 γ

Tabelle III

FRAU B. 51 JAHRE, 2 JAHRE MENOPAUSE

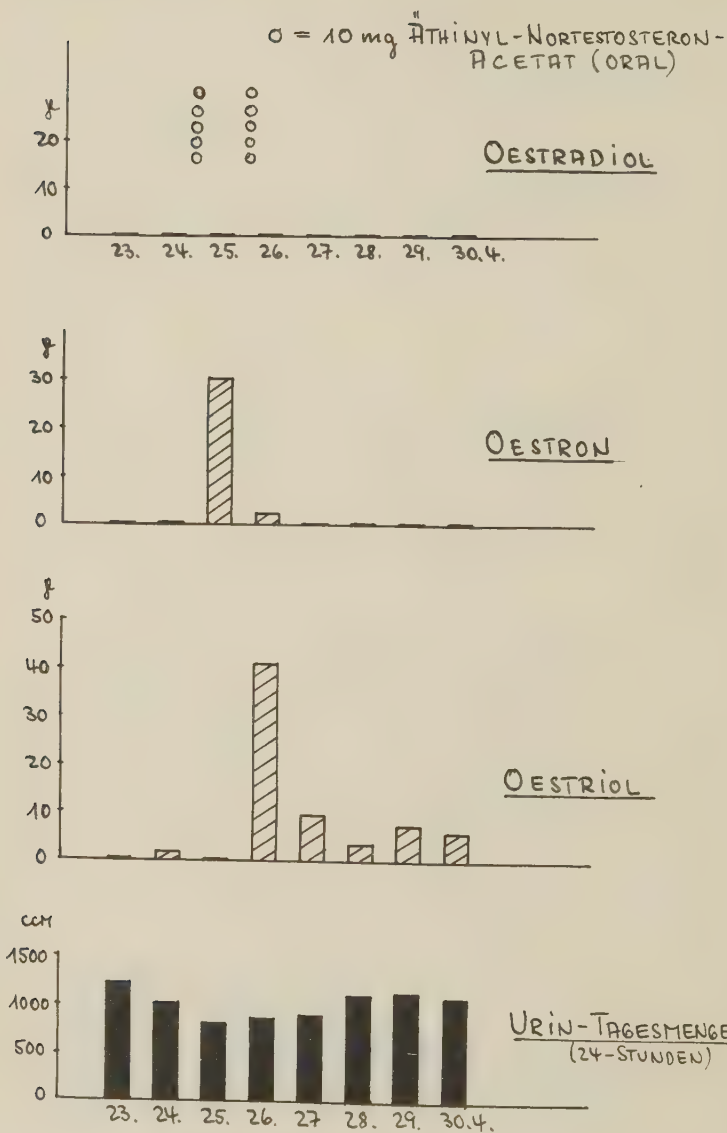


ABB. III.

Frau Sch. nahm gleichfalls 100 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat an zwei aufeinanderfolgenden Tagen à 50 mg in oraler Form. Die Oestradiolabscheidung blieb negativ, mit Ausnahme des 5. Tages nach der letzten Medikation mit einem Wert von 7 μ . Die Oestronausscheidung zeigte vor der Einnahme des Präparates niedrige Werte. Am Tag der ersten Applikation von 50 mg stieg sie auf 46 μ an. Sie erreichte am nächsten Tag, nach der 2. Dosis, mit 62 μ den Höhepunkt. Im folgenden war die Oestronausscheidung im Vergleich zu den Ausgangswerten nicht mehr oder ganz geringfügig erhöht. Oestriol war nach Werten von 4 und 2 μ an den Tagen vor der Hormonverabreichung, am Tag der ersten Applikation negativ. Einen Tag später trat mit der zweiten Dosis ein Anstieg auf 23 μ auf, der sich nach einer negativen Ausscheidungsintervall von einem Tag auf 64 μ steigerte. An der letzten 3 Versuchstagen blieb diese Fraktion noch deutlich erhöht (siehe Tabelle IV und Abbildung IV).

Frau Sch.

64 Jahre alt, 0-para, Menopause mit 55 Jahren

Supravaginale Uterusamputation 1949

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	4.5.58	1570 ccm	Ø	Ø	4 μ
2	5.5.	2100 ccm	Ø	5 μ	2 μ
	am 6.5. 50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat (oral)				
3	6.5.	2060 ccm	Ø	46 μ	Ø
	am 7.5. nochmals 50 mg Äthinyl-Nortestosteron-Acetat (oral)				
4	7.5.	2600 ccm	Ø	62 μ	23 μ
5	8.5.	1600 ccm	Ø	3 μ	Ø
6	9.5.	1700 ccm	Ø	5 μ	64 μ
7	10.5.	1580 ccm	Ø	2 μ	29 μ
8	11.5.	1420 ccm	7 μ	Ø	16 μ
9	12.5.	2800 ccm	Ø	11 μ	31 μ

Tabelle IV

FRAU SCH. 64 JAHRE, MENOPAUSE SEIT 9 JAHREN

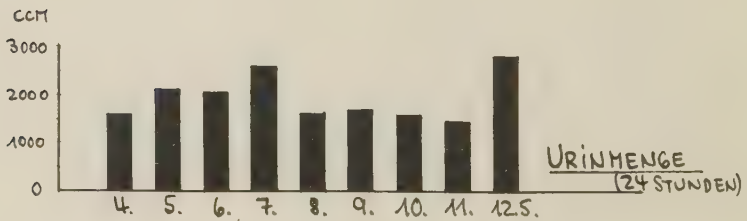
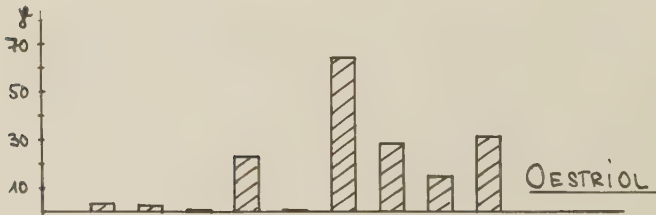
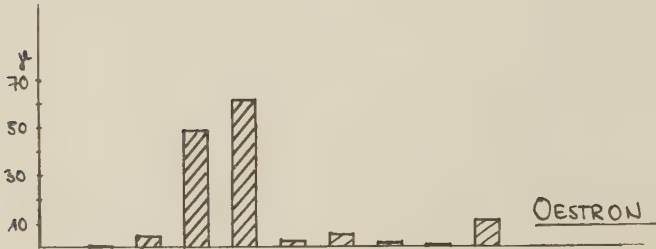
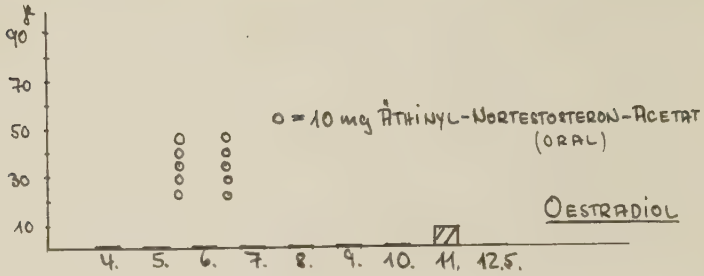


ABB. IV

II. Drei Frauen wurde Äthiny1-Nortestosteron verabreicht. Alle bekamen dieselbe Dosis von 2 x 50 mg oral an zwei aufeinanderfolgenden Tagen.

Bei Frau W. war die Oestradiolausscheidung vor und nach der Hormonzufuhr negativ. Oestron reagierte bereits auf die erste Dosis mit einem starken Anstieg, der am Tag darauf, nach der zweiten Verabreichung, sein Maximum mit 36 μ erreichte. Die beiden Ausgangsbestimmungen ergaben 0 und 8 μ . Nach der Maximalausscheidung sanken die Werte wieder ab. Das Oestriol zeigte eher eine geringe, nicht signifikante Depression, die während aller Untersuchungstage zum Ausdruck kam (siehe Tabelle V und Abbildung V).

Frau W.

55 Jahre alt, IV-para, Menopause seit 1947

Uterustotalexstirpation im Juni 1958 nach Ca. corporis uteri

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	10.6.58	1000 ccm	Ø	8 μ	12 μ
2	11.6.	600 ccm	Ø	Ø	9 μ
	am 12.6.	50 mg Äthiny1-Nortestosteron (oral)			
3	12.6.	650 ccm	Ø	30 μ	7 μ
	am 13.6.	nochmals 50 mg Äthiny1-Nortestosteron (oral)			
4	13.6.	1450 ccm	Ø	36 μ	Ø
5	14.6.	900 ccm	Ø	Ø	7 μ
6	15.6.	1200 ccm	Ø	17 μ	3 μ
7	16.6.	1200 ccm	Ø	Ø	4 μ
8	17.6.	1080 ccm	Ø	Ø	2 μ

Tabelle V

FRAU W. 55 JAHRE, MENOPAUSE SEIT 1947

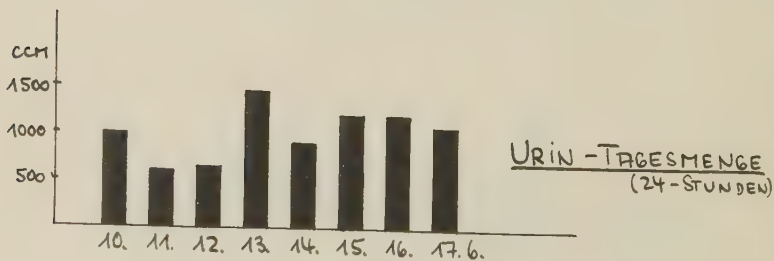
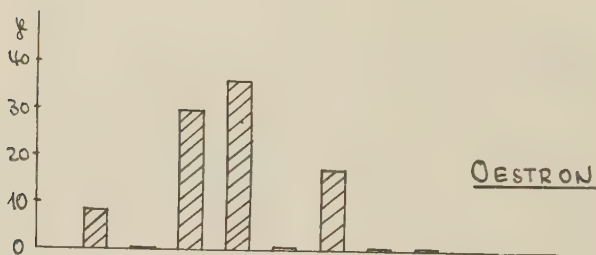
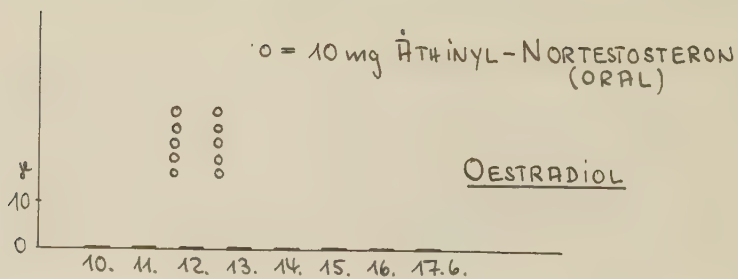


ABB. V.

Frau Ja. bekam ebenfalls 2 x 50 mg Äthiny1-Nortestosteron. Auch hier wurden zwei Ausgangswerte bestimmt. Oestradiol war fast durchweg negativ, lediglich am 1. Versuchstag mit der ersten Dosis betrug die Ausscheidung 2 μ . Oestron zeigte Ausgangswerte von 43 und 48 μ . Es stieg mit der ersten Hormongabe stark an und erreichte bereits mit der zweiten ein Maximum von 126 μ und fiel dann auf Werte im Bereich der Ausgangswerte ab. Beim Oestriol trat eine Depression ein. Nur am zweiten Tag lag die Ausscheidung im Bereich der Ausgangswerte (siehe Tabelle VI und Abbildung VI).

Frau Ja.

48 Jahre alt, II-para, Menopause seit Juni 1958 nach

Uterusexstirpation und Urethropexie wegen Uterus myomatosus.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	24.6.58	950 ccm	Ø	43 μ	20 μ
2	25.6.	1100 ccm	Ø	48 μ	39 μ
	am 26.6.	50 mg Äthiny1-Nortestosteron (oral)			
3	26.6.	950 ccm	2 μ	104 μ	3 μ
	am 27.6.	nochmals 50 mg Äthiny1-Nortestosteron (oral)			
4	27.6.	850 ccm	Ø	126 μ	36 μ
5	28.6.	600 ccm	Ø	15 μ	2 μ
6	29.6.	1520 ccm	Ø	61 μ	7 μ
7	30.6.	930 ccm	Ø	20 μ	1 μ
8	1.7.	1140 ccm	Ø	29 μ	Ø

Abbildung VI

FRAU JA. 48 JAHRE, MENOPAUSE NACH TOTAL-
EXSTIRPATION DES UTERUS

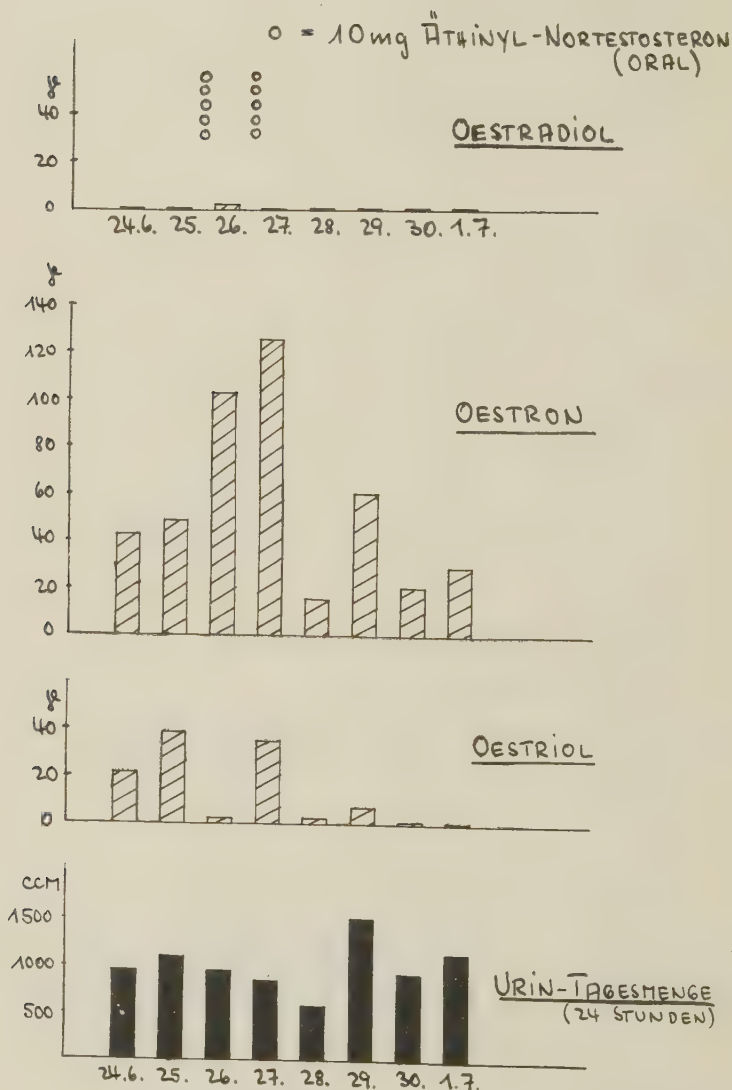


ABB. VI

Frau He. wurde wiederum Äthinyl-Nortestosteron in einer Menge von 2 x 50 mg oral an zwei Tagen verabreicht. Die Oestradiolausscheidung war bis auf den Tag nach der zweiten Verabreichung mit 8 μ negativ. Oestron wies Ausgangswerte von 13 und 16 μ auf und stieg schon nach der ersten Hormongabe auf 24 μ , nach der zweiten auf einen Höchstwert von 33 μ , um nachher meist unter den Normwerten zu bleiben. In diesem Fall war die Oestriolfraction eindeutig erhöht. Am ersten und zweiten Versuchstag waren es 14 und 25 μ und am 7. Versuchstag mit 32 μ zugleich das Maximum (siehe Tabelle VII und Abbildung VII).

Frau He.

44 Jahre alt, 0-para, Menopause seit Juni 1958 nach Totalexstirpation des Uterus und beider Adnexe wegen Uterus myomatosus mit Endometriose.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	15.6.58	1070 ccm	Ø	13 μ	Ø
2	16.6.	1300 ccm	Ø	16 μ	4 μ
	am 17.6.	50 mg Äthinyl-Nortestosteron (oral)			
3	17.6.	1100 ccm	Ø	24 μ	14 μ
	am 18.6.	nochmals 50 mg Äthinyl-Nortestosteron (oral)			
4	18.6.	900 ccm	8 μ	33 μ	25 μ
5	19.6.	600 ccm	Ø	11 μ	3 μ
6	20.6.	650 ccm	Ø	4 μ	5 μ
7	21.6.	1400 ccm	Ø	16 μ	21 μ
8	22.6.	700 ccm	Ø	7 μ	2 μ
9	23.6.	850 ccm	Ø	11 μ	32 μ

Tabelle VII

FRAU HE. 44 JAHRE, TOTALEXSTIRPATION DES UTERUS
+ BEIDER ADNEXE

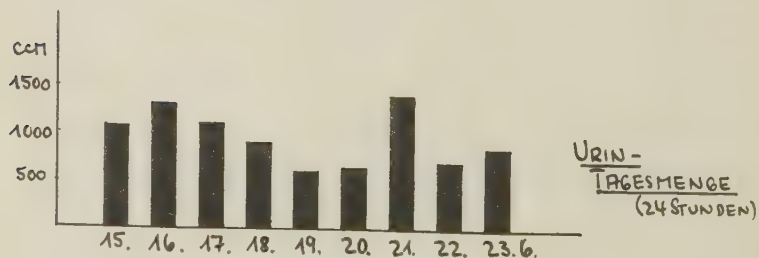
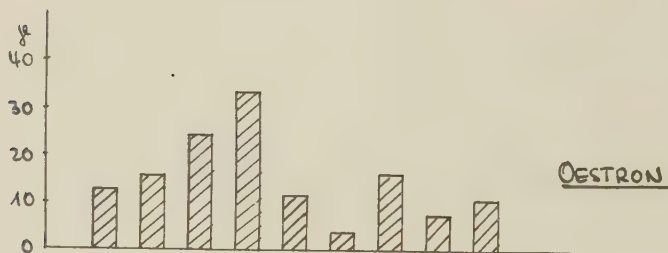
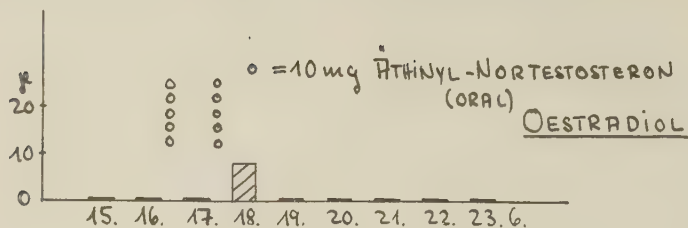


ABB. VII

III. Methyl-Nortestosteron erhielten zwei Frauen.

Frau Bo. bekam an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 50 mg i. m. Es wurden zwei Ausgangswerte bestimmt. Von diesen war beim Oestradiol der erste negativ, der zweite betrug 14 μ . Gleich am ersten Versuchstag stieg die Oestradiolausscheidung stark an auf 56 μ . Weitere Untersuchungen ergaben dann Nullwerte. Oestron zeigte Ausgangswerte von 2 und 12 μ . Die Maximalausscheidung dieser Fraktion betrug gleich am Tag nach der ersten Dosis 38 μ , die an den folgenden Tagen langsam wieder absank. Die Oestriolausscheidung bewegte sich im Bereich der Ausgangswerte, die 12 und 29 μ betrugen (siehe Tabelle VIII und Abbildung VIII).

Frau Bo.

55 Jahre alt, 0-para, Menopause seit 1957

Entfernung der linken Adnexe am 29.3.1958 wegen stielgedrehter Ovarialcyste.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	9.4.58	1650 ccm	Ø	2 μ	29 μ
2	10.4.	1600 ccm	14 μ	12 μ	12 μ
	am 11.4. Injektion von 50 mg Methyl-Nortestosteron (i. m.)				
3	11.4.	1550 ccm	56 μ	38 μ	28 μ
	am 12.4. nochmalige Injektion von 50 mg Methyl-Nortestosteron (i. m.)				
4	12.4.	1500 ccm	Ø	26 μ	13 μ
5	13.4.	1250 ccm	Ø	7 μ	16 μ
6	14.4.	1280 ccm	Ø	18 μ	17 μ
7	15.4.	1200 ccm	Ø	10 μ	1 μ
8	16.4.	1330 ccm	Ø	9 μ	4 μ

Tabelle VIII

FRAU B.O.

55 JAHRE, 2 JAHRE MENOPAUSE

↓ ↓ 2 x 50 mg METHYL-NORTESTO-
STERON (i.m.)

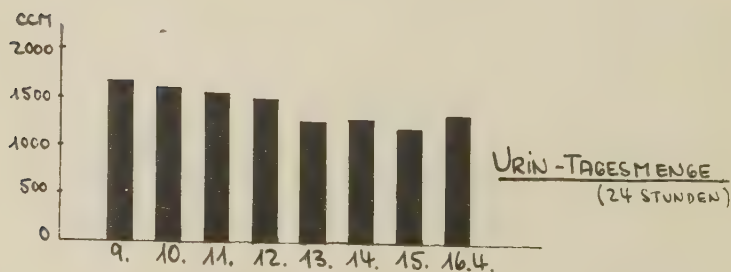
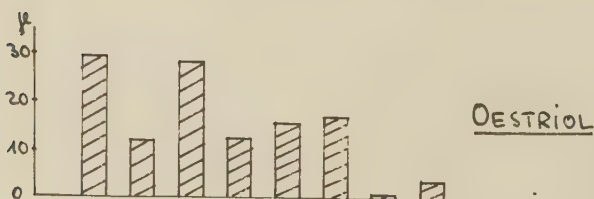
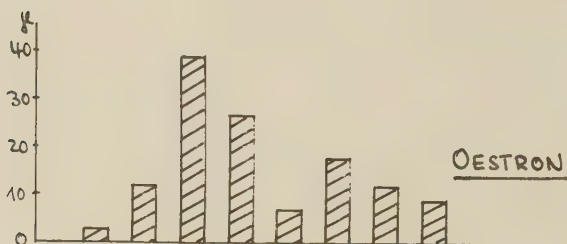
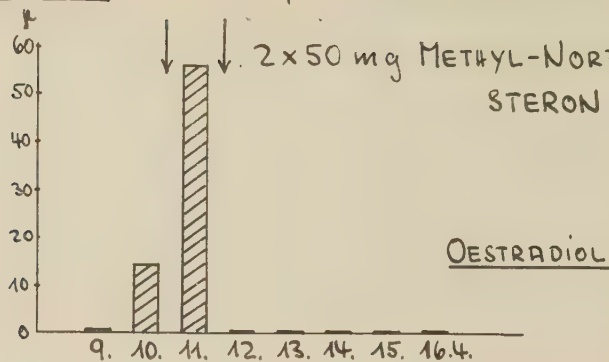


ABB. VIII

Frau M. wurde das Methyl-Nortestosteron in einer einmaligen Dosis von 100 mg oral verabreicht. Das Oestradiol war vor und nach der Hormongabe negativ. Oestron stieg gegenüber den Ausgangswerten von 5 und 6 μ am ersten Versuchstag auf 10 μ und am dritten nochmals um einige μ auf 14 μ an. Danach war ein Absinken unter die Ausgangswerte zu beobachten. Oestriol zeigte nach Ausgangswerten von 7 und 9 μ eine relativ konstante Depression (siehe Tabelle IX und Abbildung IX).

Frau M.

66 Jahre alt, 0-para, Menopause mit 53 Jahren

Supravaginale Uterusamputation mit den linken Adnexen wegen Ovarial-ca. 1957.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	13.10.57	1100 ccm	Ø	5 μ	7 μ
2	14.10.	1280 ccm	Ø	6 μ	9 μ
	am 15.10.	100 mg Methyl-Nortestosteron (oral)			
3	16.10.	1660 ccm	Ø	10 μ	2 μ
4	17.10.	800 ccm	Ø	3 μ	Ø
5	18.10.	750 ccm	Ø	14 μ	1 μ
6	19.10.	1000 ccm	Ø	6 μ	Ø
7	20.10.	950 ccm	Ø	4 μ	Ø

Tabelle IX

FRAU M. 66 JAHRE, MENOPAUSE SEIT 13 JAHREN

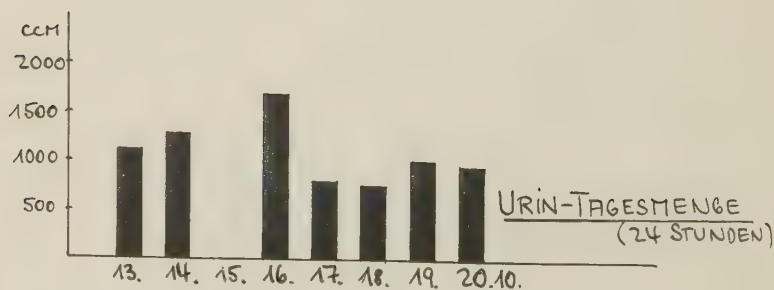
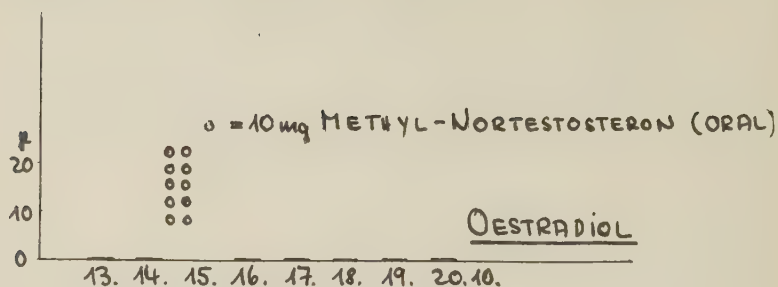


ABB. IX

IV. Ein Einzelversuch wurde mit Äthinyl-Nortestosteron-Önanthat durchgeführt.

Frau Je. bekam eine einmalige Injektion von 200 mg dieses Präparates, nachdem zwei Ausgangswerte bestimmt wurden. Oestradiol zeigte lediglich einen ganz niedrigen positiven Wert mit 2 μ am letzten Versuchstag. Die Ausscheidung des Oestrone sank während der ganzen Versuchsdauer ab. Oestriol bewegte sich unter und im Bereich der Ausgangswerte. Bei Oestron und Oestriol konnte man gegen Ende der Untersuchungen wieder einen leichten Anstieg der Ausscheidungsquoten beobachten (siehe Tabelle X und Abbildung X).

Frau Je.

47 Jahre, III-para, seit 1955 in der Menopause

Supravaginale Uterusamputation ohne Adnexe im März 1958 wegen Uterusmyomatosus.

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol
1	25.3.58	900 ccm	Ø	14 μ	14 μ
2	26.3.	1400 ccm	Ø	28 μ	27 μ
am 27.3. Injektion von 200 mg Äthinyl-Nortestosteron-Önanthat (i.m.)					
3	27.3.	1150 ccm	Ø	5 μ	7 μ
4	28.3.	1330 ccm	Ø	2 μ	15 μ
5	29.3.	1280 ccm	Ø	4 μ	13 μ
6	30.3.	1020 ccm	Ø	4 μ	16 μ
7	31.3.	1100 ccm	Ø	5 μ	2 μ
8	1.4.	1450 ccm	2 μ	10 μ	22 μ

Tabelle X

FRAU J.E. 47 JAHRE SEIT 1955 MENOPAUSE

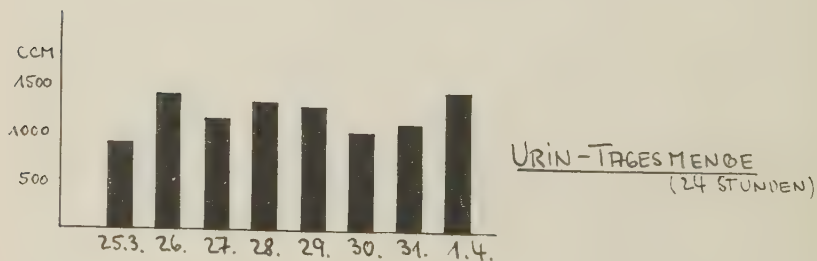
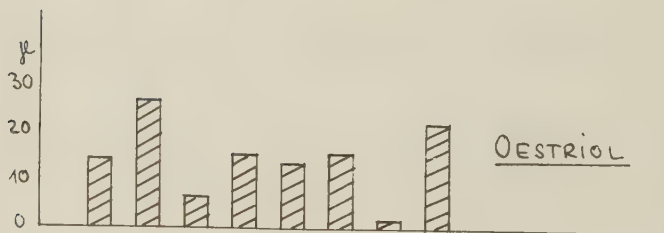
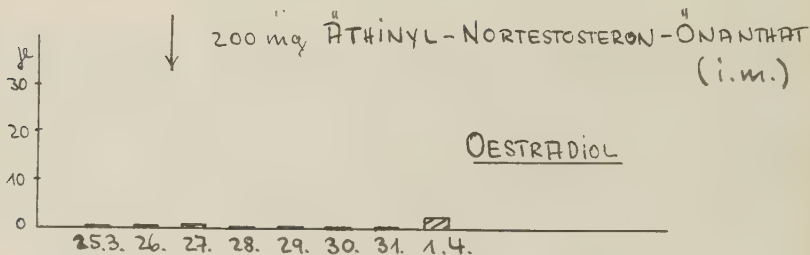


ABB. X

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Zur Deutung der Ergebnisse unserer Versuche mit Nortestosteronverbindungen hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Oestrogenausscheidung, können nur wenige Literaturangaben herangezogen werden.

Zunächst sollen unsere Einzelversuche zusammenfassend betrachtet werden. Da die Untersuchungen mit verschiedenen Präparaten und zum Teil auch mit unterschiedlichen Dosierungen und Verabreichungsformen durchgeführt wurden, ist eine Unterteilung in verschiedene Gruppen notwendig.

Von den vier Frauen, denen Äthinyl-Nortestosteron-Acetat oral gegeben wurde, bekamen zwei eine tägliche Dosis von 30 mg. Die Ausscheidung ergab bei beiden durchschnittlich eine Erhöhung des Oestrone um ca das 8-fache des Ausgangswertes, im einen Fall über mindestens neun, im andern über mindestens sechs Tage. Dabei war die Erhöhung beim Sechs-Tage-Versuch nicht immer so ausgeprägt. Die Oestradiolausscheidung blieb beidemale immer negativ. Ostriol war bei jedem Fall mehr oder weniger vermindert.

Eine Gesamtdosis von 100 mg desselben Präparates erhielten zwei andere Frauen in Form von je 50 mg an zwei aufeinanderfolgenden Tagen. Auch hier war im Durchschnitt die Oestronausscheidung an den ersten beiden Tagen einheitlich vermehrt um ca das 14-fache der Ausgangswerte. Die Oestradiolausscheidung wurde praktisch bei keiner von beiden beeinflusst. Ostriol begann am Tag nach der Verabreichung anzusteigen und blieb bis zur letzten Untersuchung erhöht.

Es ist also aus allen vier Versuchsserien zu erkennen, dass die Oestrogene jeweils einige Tage nach der Verabreichung eindeutig vermehrt ausgeschieden werden. In der einen Gruppe ist es nur die Oestronfraktion über mehrere Tage, während bei der anderen nach 2 x 50 mg die Oestron- und Ostriolfraktion vermehrt auftreten, das erstere kurz, das letztere ebenfalls über mehrere Tage.

Äthinyl-Nortestosteron bei drei Frauen angewandt, ergab ähnliche Ergebnisse. Verabreicht wurde je 2 x 50 mg in oraler Form an zwei aufeinanderfolgenden Tagen. Die Oestronausscheidung stieg in allen drei Fällen an den beiden Tagen unmittelbar nach den Hormongaben um durchschnitt-

lich das 3-fache. Das Oestradiol reagierte kaum. Die Oestriolfraction war in zwei Fällen niedriger, während im dritten ein starker Anstieg zu verzeichnen war.

Bei den zwei Versuchen mit Methyl-Nortestosteron in Mengen von einmal 100 mg i. m., das anderemal ebenfalls 100 mg, aber oral und verteilt auf 2 x 50 mg, stimmten die Ausscheidungen auch ungefähr überein. Merkwürdigerweise zeigte hier aber eine Frau eine einmalige, relativ hohe Oestradiolausscheidung am Tag nach der Hormongabe, was in diesem Ausmass bei den Nortestosteronpräparaten sonst nicht beobachtet werden konnte. An den Tagen danach und in dem anderen Fall war keine Ausscheidung von Oestradiol vorhanden. Oestron stieg bei beiden Frauen vom ersten Versuchstag ab durchschnittlich ungefähr um das 2 1/2-fache an. Oestriol zeigte eher eine Depression.

Der Einzelversuch mit 1 x 200 mg Äthinyl-Nortestosteron-Önanthat i. m. ergab beim Oestron eine deutliche Verminderung der Ausscheidungswerte. Das Oestriol blieb ziemlich unbeeinflusst von der Hormonzufuhr, während die Oestradiolausscheidung gegenüber vorher einmal leicht positiv wurde.

Wenn man die Ergebnisse nun zusammenfassend betrachtet, so kann man allgemein sagen, dass die Gestagene Äthinyl-Nortestosteron-Acetat, Äthinyl-Nortestosteron und Methyl-Nortestosteron alle eine 1 - 4 tägige Erhöhung der Oestronausscheidung bewirken. Sie ist bei der kleinen Fallzahl jedoch nur für das Äthinyl-Nortestosteron-Acetat mit $P = 0,008^+$ signifikant. Die Oestriolausscheidung verhält sich uneinheitlich. Die Ausscheidung des Oestradiols erweist sich im grossen und ganzen von diesen Hormongaben unabhängig.

Äthinyl-Nortestosteron-Önanthat weicht in seiner Wirkung auf die Oestrogenausscheidung von derjenigen der anderen verabreichten Präparate ab. Dabei muss hervorgehoben werden, dass es sich auch wegen seiner ausserordentlich langen Depotwirkung im Organismus von den anderen Nortestosteronen unterscheidet. Sie kann sonst bei keinem anderen Gestagen beobachtet werden (88).

Unsere Resultate finden in der Literatur insofern Stützen, als bereits in zwei Veröffentlichungen von einer Zunahme der Oestrogenausscheidung nach Applikation von Äthinyl-, Methyl- und Äthyl-Nortestosteron die Rede ist (44, 73). Allerdings wird dort von erhöhten Oestriolausscheidungen berichtet, während solche bei den vorliegenden Untersuchungen nur selten auftreten,

Oestron aber immer eindeutige Erhöhungen zeigt. Dass diese deutliche Oestronbeeinflussung in den früheren Arbeiten anscheinend nicht auftrat, mag zunächst merkwürdig erscheinen, ist aber vielleicht doch erklärlich. Zunächst spielt sicher das Verfahren eine Rolle, mit dem die Oestrogene bestimmt werden. Einen Einfluss hat auch die Applikationsform, ob oral oder parenteral, und vor allem die Tatsache, ob bzw. wie die Substanz verestert ist.

Die kaum veränderte Oestradiolausscheidung lässt offen, ob dieses Oestrogen entweder nicht entsteht, oder ob ein rasch einsetzender Oestradiolabbau eine Ausscheidung dieser Fraktion gar nicht zustandekommen lässt. Die zweite Möglichkeit erscheint wahrscheinlicher. Dafür spricht zum Beispiel einer der Versuche mit Methyl-Nortestosteron, bei dem es unmittelbar nach der Verabfolgung des Präparates zu einer einmaligen, relativ hohen Oestradiolausscheidung kam.

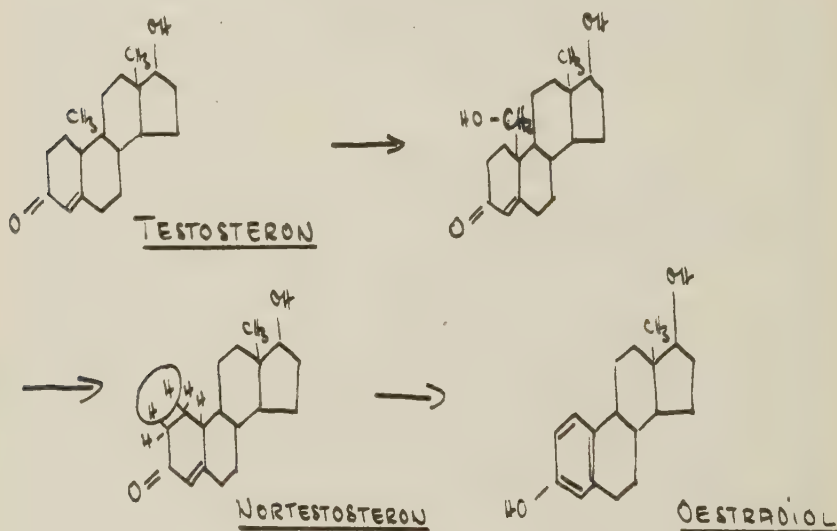
Die erhöhte Oestronausscheidung dauert einige Tage nach der Verabreichung an, wenn es sich um kein Depothormon handelt, dasselbe gilt gelegentlich für die Oestriolausscheidung.

Die Kenntnis der Frage, welches der drei Oestrogene nach den Nortestosterongaben vermehrt ausgeschieden wird, stellt aber nicht das wichtigste Ergebnis dar. Die wesentlichste Bedeutung hat die Tatsache, dass diese Substanzen überhaupt zu vermehrten Oestrogenausscheidungen führen. Im folgenden wird versucht, diese Feststellung zu erklären. Mit Hilfe früherer Arbeiten in der Literatur haben wir die Umbaumöglichkeiten verschiedener Steroide, besonders derer von Androgenen in Oestrogene, aufzuzeigen versucht. Diese werden seit Jahren von zahlreichen Forschern diskutiert und sind durch entsprechende Versuche belegt.

Dass für die Nortestosteronverbindungen tatsächlich die Möglichkeit eines Umbaus in Oestrogene besteht, konnte, wie oben S. 32 schon berichtet wurde, von KUSHINSKY (49) bewiesen werden. Diese Versuche, die erst in letzter Zeit veröffentlicht wurden, sind für die vorliegenden Ergebnisse höchst bedeutsam. Die Möglichkeit, dass die Nebennierenrinde oder andere hormonproduzierende Organe bei Frauen in der Menopause durch die Nortestosteronderivate zur Produktion von Oestrogenen irgendwie angeregt werden, verliert dadurch an Gewicht. Solange allerdings noch keine Untersuchungen mit markierten Hormonen in dieser Richtung existieren, kann die Herkunft der Oestrogene von seiten solcher Organe nicht absolut ausgeschlossen werden.

Vieles spricht jedoch für einen Umbau der neuen Gestagene in Oestrogene. Zunächst die Verwandtschaft in der Struktur von Nortestosteron und Testosteron.

Die mögliche Umwandlung von Testosteron, oder allgemein von Androgenen in Oestrogene ist erwiesen (85). Es wird heute sogar diskutiert, ob den Androgenen in der Biosynthese nicht eine Rolle als Prooestrogene zukommt (69). Wenn aber Androgene in Oestrogene umgewandelt werden können, so besteht auch theoretisch die Möglichkeit, dass dies für Nortestosteronverbindungen ebenfalls zutrifft, sogar auf einfacherem Wege. Es ist chemisch denkbar, dass sogar im endogenen Stoffwechsel der Umbau von Testosteron in Oestradiol über das Nortestosteron vor sich geht nach folgendem Schema:



Das Nichtvorhandensein der CH_3 -Gruppe an C_{10} beim Nortestosteron dürfte den ganzen Umbauvorgang auf jeden Fall erleichtern, weil diese Gruppe im allgemeinen als sehr stabil gilt.

Das Entscheidende für den Metabolismus von Androgenen und auch von den neuen Gestagenen in Oestrogene ist wohl die Aromatisierung des Ringes A des Steringerüsts.

Zur Zeit handelt es sich hier aber nur um theoretische Überlegungen, die erst durch entsprechende Versuche zu belegen wären. Als konkretes Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen können jedenfalls die bisher in der Literatur beschriebenen, vermehrten Oestrogenausscheidungen nach Applikation der neuen Gestagene bestätigt bzw. erweitert werden.

Damit lässt sich auch die Tatsache erklären, dass in der Therapie bei verschiedenen Indikationen, wie zum Beispiel zur Blutstillung bei glandulär-cystischen Hyperplasien oder zur Verlängerung einer Sekretionsphase, die Nortestosteronpräparate nicht in dem Umfang mit Oestrogenen kombiniert werden müssen wie das Progesteron (88).

E. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe des Verfahrens nach J. B. BROWN die drei Fraktionen der Oestrogene, Oestradiol, Oestron und Oestriol nach Gaben von neuen, synthetischen Gestagenen aus der Nortestosteronreihe im Harn bestimmt. Dieses Verfahren ermöglicht eine genaue, getrennte Bestimmung von Oestradiol, Oestron und Oestriol, im Gegensatz zu den älteren Methoden, die entweder Gesamtoestrogene erfassten, oder nur Teiltrennungen ermöglichten.

Im allgemeinen Teil dieser Arbeit wurde eine Übersicht über Chemie, Wirkung und Stoffwechsel der Oestrogene und natürliche und synthetische Gestagene gegeben. Einer Beschreibung der wichtigsten biologischen und chemischen Bestimmungsmethoden folgten detaillierte Angaben über das Verfahren nach BROWN.

Im speziellen Teil wurde zunächst über die Literaturangaben im Zusammenhang mit dem Thema berichtet. In eigenen Untersuchungen kamen vier verschiedene Gestagenpräparate der Nortestosteronreihe bei zehn Frauen ohne nennenswerte Ovarialfunktion zur Anwendung.

Beim Äthinyl-Nortestosteron-Acetat, Äthinyl-Nortestosteron und Methyl-Nortestosteron in Dosen von 100 - 300 mg resultierte ein deutlicher Anstieg der Oestrogenausscheidung. Es betraf fast ausschliesslich Oestron, das über 1 - 4 Tage nach der Verabreichung vermehrt auftrat, und zwar nach Äthinyl-Nortestosteron-Acetat um durchschnittlich das 11-fache, nach Äthinyl-Nortestosteron um durchschnittlich das 3-fache und nach Methyl-Nortestosteron um ca das 2 1/2-fache der Ausgangswerte. Signifikant war der Anstieg bei den Versuchen mit Äthinyl-Nortestosteron-Acetat (Seite 56). Oestriol verhielt sich uneinheitlich, teils mit erhöhten, teils mit unbeeinflussten oder gar verminderten Werten. Die Oestradiolfraktion reagierte im allgemeinen nicht auf diese drei Präparate.

Äthinyl-Nortestosteron-Önanthat verhielt sich in seiner Wirkung abweichend von den übrigen verabreichten Stoffen. Die Oestronausscheidung war nach der Applikation vermindert, Oestradiol gegenüber den Ausgangswerten dagegen einmal leicht erhöht, die Oestriolfraktion wurde praktisch nicht beeinflusst.

Konkretes Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen ist also die Tatsache,

dass Nortestosteron-Derivate zum grössten Teil eine vermehrte Ausscheidung an Oestron im Harn bewirken.

Da in jüngster Zeit nach Inkubationsversuchen von Nortestosteronverbindungen Stoffe isoliert wurden, die sich zum grössten Teil als Oestrogene identifizieren liessen, besteht die Möglichkeit einer teilweisen Umwandlung von Nortestosteronverbindungen in Oestrogene auch im Organismus. Zuletzt wurde noch versucht, den möglichen chemischen Weg einer solchen Umwandlung im Organismus darzulegen.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ALLEN und CORNER: Amer. J. Physiol. 92, 174 (1930)
J. Biol. Chem. (Am) 98, 591 (1932)
- 2) ALLEN und DOISY: J. Amer. Med. Assoc 81, 819 (1923)
- 3) ALLEN und WINTERSTEINER:
Science (N. Y., N. S.) 80, 190 (1934)
J. Biol. Chem. (Am) 107, 321 (1934)
- 4) AMMON und DIRSCHERL:
"Fermente, Hormone, Vitamine" (1948)
- 5) BACHMANN und PETTIT:
J. Biol. Chem. 138, 689 (1941)
- 6) BOSCHMANN und KUR:
Geburtsh. u. Frauenhkl. 17, 928 (1957)
- 7) BRADBURY, BROWN und GRAY:
Recent. Progr. in Hormone Res. 5, 151 (1950)
- 8) BREITNER und EICHSTÄDTER:
Ärztliche Forschung 10, 457 (1954)
- 9) BREUER, NOCKE und KNUPPEN:
Hoppe - Seyler's Z. 315, 72 (1959)
- 10) BROWN: Biochemic. J. 60, 185 (1955)
- 11) BUTENANDT: Naturwissenschaften 17, 879 (1929)
- 12) BUTENANDT und KUDZUS:
Hoppe - Seyler's Z. 75, 237 (1935)
- 13) BUTENANDT und THOMPSON:
Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 140 (1934)
- 14) BUTENANDT, WEIDLICH und THOMPSON:
Ber. dtsch. chem. Ges. 66, 601 (1933)
- 15) BUTENANDT und WESTPHAL:
Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 1440 (1934)

- 16) BUTENANDT, WESTPHAL und COBLER:
Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 1611, 2085 (1934)
- 17) BUTENANDT, WESTPHAL und HOHLWEG:
Hoppe - Seyler's Z. 227, 84 (1934)
- 18) CLAYTON: J. Clin. Endocrin. 14, 815 (1954)
- 19) COHEN und BATES: J. Clin. Endocrin. 7, 701 (1947)
- 20) COHEN und MARRIAN:
Biochemic. J. 28, 1603 (1934)
- 21) DOISY, MAC CORQUODALE und THAYER:
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med (Am). 32, 1182 (1935)
- 22) DOISY und CURTIS: J. Biol. Chem. 91, 647 (1931)
- 23) DOISY, HUFFMANN und THAYER:
J. Biol. Chem. 133, 567 (1940)
- 24) DOISY, G. V. SMITH, O. W. SMITH, HUFFMANN, THAYER und
MAC CORQUODALE:
J. Biol. Chem. 130, 431 (1939)
- 25) DOISY, VELER und THAYER:
Amer. J. Physiol. 90, 329 (1929)
- 26) DÖRING, LOESCHKE und OCHWADT:
Pflügers Arch. 252, 216 (1950)
- 27) EVANS und LONG: Mem. Univ. California 6 (1922)
- 28) EVANS und VARNEY: J. Biol. Chem. 140, Proc. 38 (1941)
- 29) EVANS, VARNEY und KOCH:
Endocrinologie (Am) 28, 747 (1941)
- 30) FELS und SLOTTA: Proc. Soc. internat. Congr. Sex. Res. London 361
(1930)
Arch. Gynäk. 144, 280 (1931)
Zbl. ges. Gynäk. 55, 2765 (1931)
- 31) FERNHOLZ: Liebigs Ann. Chem. 507, 128 (1933)
- 32) FEVOLD und HISAW: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am) 29, 620 (1932)

- 33) FINKELSTEIN, M.: Proc.Soc.exper.Biol.a.Med. 69, 181 (1948)
- 34) FRAENKEL: Arch.Gynäk. 68, 438 (1903)
Arch.Gynäk. 91, 705 (1910)
- 35) FRAENKEL und COHN: Anat. Anz. 20, 294 (1902)
- 36) FRIEDGOOD-GARST und HAAGEN-SMITH:
J. Biol. Chem. 174, 522 (1948)
- 37) GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen (1953)
- 38) HARTMANN und WETTSTEIN:
Helvet. chim. acta 17, 878, 1365 (1934)
- 39) HEARD, JELLINEK und O'DONELL:
Endocrinology 57, 200 (1955)
- 40) HEUSGHEM und VERLY:
Rapports 3 Reun. Endocrinol. 139 (1955)
- 41) JAILER: Endocrinology 41, 198 (1947)
- 42) JAILER: J. Clin. Endocrin. 8, 564 (1948)
- 43) KAISER: Geburtsh. u. Frauenhkl. 11, 1006 (1952)
- 44) KAISER: Geburtsh. u. Frauenhkl. 17, 24 (1957)
- 45) KAISER: Habilitationsschrift, München (1958)
- 46) KELLER: Gynaecologia 136, 358 (1953)
- 47) KLEINER: J. of Biol. Chem. 138, 83 (1948)
- 48) KOBER: Biochemic.J. 239, 209 (1931)
Biochemic.J. 32, 357 (1938)
- 49) KUSHINSKY: J. Biol. Chem. 31, 230 (1958)
- 50) LAQUEUR. DINGEMANSE, DE JONGH und KOBER:
Dtsch. Med. Wschr. 56, 301 (1930)
- 51) LAWRENCE und WERTHESEN:
Endocrinology 27, 755 (1940)
- 52) LEVITZ, CONDON und DANCIS:
Endocrinology 58, 376 (1956)

- 53) MARQUARDT und REPKE:
Arch. exper. Path. u. Pharm. 224, 341 (1955)
- 54) MARRIAN:
Biochem. J. 24, 435 (1930)
- 55) MEYER:
Biochem. biophysica acta (N. Y.) 17, 441 (1955)
- 56) MUELLER und RUMNEY:
J. Amer. Chem. Soc. 79, 1004 (1957)
- 57) MYERS, WEST, PEARSON und KARNOFSKY:
J. Amer. Med. Ass. 161, 127 (1956)
- 58) NATHANSON, ENGEL, KELLEY, EKMANN, SPALDING und ELLIOTT:
J. Clin. Endocrin., Springfield 12, 1172 (1952)
- 59) OBER und WEBER:
Klin. Wschr. 683 (1951)
- 60) PAPANICOLAOU:
Amer. J. Anat. 22, 225 (1917)
- 61) PEARLMAN:
Chemistry and Metabolism of Estrogens
in: Pincus-Thimann: The Hormone, New-York
(1949)
- 62) PSCHYREMBEL und HALDER:
Hoppe-Seyler's Z. 306, 154 (1957)
- 63) PUCK und HÜBNER:
Acta Endocrinolog. 22 (1956)
- 64) RUZICKA und WETTSTEIN:
Helvet. chim. acta 18, 986 (1935)
- 65) RYAN und ENGEL:
Endocrinology 52, 287-291 (1953)
- 66) SALHANICK, JONES und BERLINER:
Fed. Proc. 15, 160 (1956)
- 67) SALMON:
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. (N. Y.) 37, 488 (1937)
- 68) SCHLÖSSER:
Geburtsh. und Frauenhilk. 10, 917 (1951)
- 69) SIMMER:
Dtsch. Med. Wschr. 83, 349 (1958)
- 70) SLOTTA, RUSCHIG und FELS:
Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 1270, 1624, 1947
(1934)

- 71) SMITH, O. W., G. V. SMITH und SCHILLER:
Amer. J. Obstetr. 45, 15 (1943)
- 72) SOLOMON, WIELE und LIEBERMANN:
J. Am. Chem. Soc. 78, 5453 (1956)
- 73) STAEMMLER und LAURITZEN:
Zentralbl. f. Gynäk. 80, 754 (1958)
- 74) STEINACH, KIM und PECZENIK:
Klin. Wschr. 49, 499 (1936)
- 74a) STEVENSON und MARRIAN:
Biochem. J. 41, 509 (1947)
- 75) STIMMEL und STEALY:
J. Clin. Endocrin. 12, 489 (1952)
- 76) STOCKARD und PAPANICOLAOU:
Amer. J. Anat. 22, 225 (1917)
- 77) SYMPOSIUM : "GESTAGENE":
Geburtsh. u. Frauenhkl. 18, 667 (1958)
- 78) TALBOT, WOLFE, Mc. LACHLAN und BUTLER:
J. Biol. Chem. 134, 319 (1940)
- 79) TAYLOR:
Geburtsh. u. Frauenhkl. 10, 709 (1949)
- 80) WINTERSTEINER und HIRSCHMANN:
J. Biol. Chem. (Am) 119, C VII (1937)
- 81) WINTERSTEINER, SCHWENK, HIRSCHMANN und WHITMAN:
J. Amer. Chem. Soc. 58, 2652 (1936)
- 82) WINTERSTEINER, SCHWENK und WHITMAN:
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am) 32, 1087 (1935)
- 84) ZANDER:
(Das Verhalten d. Schwangerschaftshormons Progesteron in d. menschl. Plazenta).
In: Probleme der fetalen Endokrinologie. Springer-Verlag, Berlin (1956)
- 85) ZANDER:
Geburtsh. u. Frauenhkl. 17, 876 (1957)

86) ZANDER, FORBES, NEHER und DESAULLES:

Klin. Wschr. 35, 143 (1957)

87) ZANDER und von MÜNSTERMANN:

Klin. Wschr. 894 (1954)

88) Beobachtung aus der I. UNIVERSITÄTS - FRAUENKLINIK MÜNCHEN

An dieser Stelle sei es mir gestattet, Herrn Professor Dr. med. BICKENBACH als Direktor der I. Universitäts-Frauenklinik München meinen besten Dank abzustatten, dass ich an der von ihm geleiteten Klinik die für die Arbeit notwendigen Untersuchungen durchführen konnte.

Ganz besonders herzlich danke ich Herrn Privat-Dozent Dr. med. KAISER für die Überlassung der Arbeit, sowie für seine freundliche Unterstützung bei der Bearbeitung.

Meinen verbindlichsten Dank sage ich auch Herrn Dr. HECKER vom Physiologisch-Chemischen Institut der Universität München für seine entgegenkommende Beratung in biochemischen Fragen.

Frl. ROGOWSKI, der chemo-technischen Assistentin der I. Universitäts-Frauenklinik, sage ich für ihre lebenswürdige Betreuung im Labor herzlichen Dank.

LEBENS LAUF

Herbert Stecher, geboren am 21. Dezember 1934 in Ulm (Donau), als dritter Sohn des Bundesbahn-Amtmanns Josef Stecher und seiner Ehefrau Frieda geb. Keller. Ablegung der Reifeprüfung im Jahr 1954 am Kepler-Gymnasium in Ulm (Donau). Anschliessend drei Semester Medizinstudium an der Universität Tübingen. Fortsetzung des Studiums und 1956 Ablegung der ärztlichen Vorprüfung an der Universität München. Im Sommersemester 1957 eingeschrieben an der Universität Freiburg i.Br.. Daraufhin wieder Studium an der Universität München bis zum Staatsexamen, das am 8.12.1959 beendet wurde.

